

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RONALD PAIVA MORENO GONÇALVES

**COAGULOGRAMA EM CADELAS COM PIOMETRA E SÍNDROME DA
RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA (SRIS)**

CURITIBA

2010

RONALD PAIVA MORENO GONÇALVES

**COAGULOGRAMA EM CADELAS COM PIOMETRA E SÍNDROME DA
RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA (SRIS)**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Linha de Pesquisa em Clínica, Cirurgia e
Patologia Veterinária, Departamento de
Medicina Veterinária, Setor de Ciências
Agrárias, Universidade Federal do
Paraná, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Ciências.**

Orientador: Antonio Felipe P. de F. Wouk

CURITIBA

2010

G635 Gonçalves, Ronald Paiva Moreno
Coagulograma em cadelas com piometra e síndrome da
resposta inflamatória sistêmica (SRIS) / Ronald Paiva Moreno
Gonçalves. – Curitiba, 2010.
93f. : il.

Orientador: Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) –
Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2010

1. Cão – Doenças. 2. Hematologia veterinária. 3. Patologia
veterinária. I. Wouk, Antonio Felipe Paulino de Figueiredo.
II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU 619.6:636.7

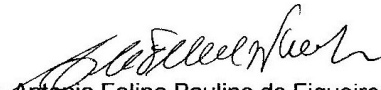
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

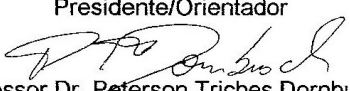


PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“COAGULOGRAMA EM CADELAS COM PIOMETRA E SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA (SRIS)”** apresentada pelo Mestrando RONALD PAIVA MORENO GONÇALVES declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou o candidato APTO para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 26 de janeiro de 2010.


Professor Dr. Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk
Presidente/Orientador


Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch
Membro


Professora Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Membro

Aos meus pais, Waldo Moreno Gonçalves e Rojane de Oliveira Paiva.

À Verônica Corte Real, minha irmã e Rosangela Paiva, minha tia.

Por todo amor, compreensão, incentivo e por quem hoje eu sou.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao meu orientador, Professor Antonio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk que teve a generosidade de ouvir-me quando ainda desconhecido, ao seu altruísmo como Orientador e Professor, aos ensinamentos de vida, e a franca e sincera amizade que se estabeleceu.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias Maria José Botelho Maeda pelo constante e importante apoio, por seus conselhos sempre pertinentes e pela agradável amizade.

À família Andrade de Souza (Jaqueline, Jackson, Maria e João) por me receberem e me acolherem como um membro da família em meus primeiros momentos em Curitiba. Muito obrigado por todo o carinho e atenção.

À Raquel de Araujo Cantarella por todo companheirismo, amizade e apoio em todos os momentos, construindo e edificando o nosso amor.

Ao Médico Veterinário e ocasionalmente Diretor do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná (UFPR) Rogério Ribas Lange pela imensa generosidade e compreensão em momentos decisivos da minha vida em Curitiba. Meus sinceros agradecimentos.

Aos Médicos Veterinários, colegas do programa de mestrado, André de Britto Obladen e Anabella Mira; agradeço toda ajuda no decorrer desta etapa da minha vida, bem como enalteço a amizade que se estabeleceu além da pesquisa.

À Médica Veterinária Luciana Sprung Varella pela amizade e por toda contribuição, sempre disposta a ajudar e com educação ímpar. Muito obrigado.

À Médica Veterinária e mestranda da Universidade Federal do Paraná Tatiane Micheletti R. Silva pela educada atenção e contribuição com a feitura desta pesquisa.

Às Médicas Veterinárias Taís Marchand Rocha Moreira e Ana Laura Angeli, Professora e Coordenadora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Tuiuti

do Paraná (UTP), respectivamente, pela colaboração com meu trabalho e pela atenção oferecida de maneira singular.

À aluna de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná (UFPR) Aline Macedo por sua constante e efetiva contribuição com a feitura da minha pesquisa. Muito obrigado.

Aos Médicos Veterinários Residentes da Universidade Federal do Paraná (UFPR) André Jayr, Fernanda Ribeiro, Kemy Tokuno, Nina Medeiros e Roberto Moraes pela contribuição com o difícil momento de estudo clínico desta pesquisa.

À Médica Veterinária Residente da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) Ana Laura Pinto D'Amico Fam pela generosa atenção e grande contribuição no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Médico Veterinário e Professor da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) Marconi Rodrigues de Farias pela permissão à solicitação de desenvolvimento da pesquisa no Hospital Veterinário da PUCPR. A todos os demais funcionários e médicos veterinários residentes desta instituição os quais pronta e educadamente me receberam e contribuíram sobremaneira para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Médica Veterinária, Professora da Universidade Federal do Paraná e então Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Rosangela Locatelli Dittrich por toda colaboração no decorrer do mestrado. Por meio da mesma deixo meus agradecimentos aos membros deste Programa que direta ou indiretamente contribuíram para a finalização desta etapa em minha vida.

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.

Cora Coralina

RESUMO

Com altos índices de admissão em hospitais veterinários, as cadelas acometidas por infecção uterina (piometra), comumente apresentam acentuadas alterações hemodinâmicas, do balanço energético e da imunidade humoral e celular. Nestes pacientes é frequente o desenvolvimento de sepse. Esta é definida como uma Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) que tem por evento incitante uma infecção. Entre as implicações sistêmicas no paciente séptico, existem as disfunções orgânicas em diferentes sistemas que se devem à perda da homeostase do sistema de coagulação e fibrinólise, contribuindo para o aumento da taxa de morbidade e mortalidade. As disfunções hemostáticas das vias intrínseca, extrínseca e comum são determinadas principalmente por meio de avaliações clínico-laboratoriais que configuram o exame de coagulograma. São escassas as publicações em medicina veterinária acerca da incidência e evolução fisiopatológica das crises sanguíneas em animais sépticos. Esta pesquisa objetivou caracterizar a prevalência de disfunções do sistema hemostático em cadelas com piometra e SRIS (paciente séptico) por meio do exame de coagulograma. O reconhecimento dos grupos de risco contribui para a instalação precoce de novos procedimentos a fim de se evitar ou minimizar possíveis disfunções do sistema de coagulação e / ou fibrinolítico. A Revisão de Literatura descreve a fisiopatologia da piometra, da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) e da sepse, bem como descreve o sistema hemostático. O Capítulo 1 descreve o histórico e evolução temporal do conhecimento científico sobre a coagulação e fibrinólise, bem como as novas pesquisas e inserção de paradigmas acerca da relação com o sistema inflamatório. O Capítulo 2 descreve os resultados da pesquisa pela comparação dos exames de coagulograma entre aquelas cadelas com piometra e SRIS e as do grupo controle (sadias). Estatisticamente observou-se diferença do tempo de tromboplastina parcial ativada entre as cadelas sadias e enfermas. Apesar da ausência de diferença estatística ($p>0,05$) nos demais exames, importantes resultados individuais em ambos os grupos, foram observados. Os resultados encontrados salientam a necessidade de inclusão do coagulograma como exame a ser utilizado na rotina hospitalar médico-veterinária em cadelas híidas e com piometra. Possíveis disfunções hemostáticas favorecedoras de trombose (estado de hipercoagulabilidade) não foram evidenciadas pelo coagulograma em virtude deste ser composto por exames que essencialmente avaliam estados de hipocoagulabilidade.

Palavras-chave: Coagulação. Inflamação. Sepse. Hemostasia. Fibrinólise.

ABSTRACT

With high rates of admission to veterinary hospitals, bitches affected by uterine infection (pyometra), commonly present specific hemodynamic changes, as well as changes in energy balance, humoral and cellular immunity. These patients often develop a sepsis process. This process is defined as the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) that is triggered by an infection. Among the systemic implications in septic patients, dysfunctions in different systems are due to the loss of homeostasis of blood coagulation and fibrinolysis, contributing to increasing conditions of morbidity and mortality. The intrinsic, extrinsic and common haemostatic dysfunction are determined mainly through the clinical and laboratorial assessments that consists in the coagulogram exam. There are few publications in veterinary medicine about the incidence and pathophysiological changes in blood in septic animals. This study aimed to characterize the prevalence of haemostatic system's dysfunctions through coagulogram exams in dogs presenting pyometra and SIRS (septic patient). The recognition of risk groups contributes to the early establishment of new procedures in order to avoid or minimize potential adverse developments of physiological dysfunction of the coagulation system and / or fibrinolytic. A Literature Review describes the pathophysiology of pyometra, the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and sepsis, as well as the hemostatic system. Chapter 1 describes the historical and temporal evolution of scientific knowledge on coagulation and fibrinolysis, as well as further research and integration of paradigms about the relationship with the inflammatory system. Chapter 2 describes the results of a research comparing the coagulation tests between those dogs with piometra and SIRS and the control group (healthy). The results showed statistically significant difference in partial thromboplastin time between healthy and sick dogs. Despite the lack of statistical difference ($p>0.05$) in the other tests, important individual results in both groups were observed. The results highlight the need for inclusion of coagulogram test for routine use in veterinary hospital to both healthy and pyometra presenting bitches. Possible hemostatic dysfunctions favoring of thrombosis (hypercoagulable state) were not evident by the coagulogram as this is composed by tests that primarily assess hypocoagulable states.

Key words: Coagulation. Inflammation. Sepsis. Hemostasis. Fibrinolysis.

RÉSUMÉ

Avec des taux élevés d'admission dans les hôpitaux vétérinaires, les chiennes touchées par une infection de l'utérus (pyomètre), souvent marquées montrent les changements hémodynamiques, le bilan énergétique et de l'immunité humorale et cellulaire. Ces patients développent souvent une septicémie. Elle se définit comme un Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique (SRIS), qui est un événement incitant à l'infection. Parmi les implications systémiques chez les patients septiques, il existe des dysfonctionnements dans les différents systèmes qui sont dus à la perte de l'homéostasie de la coagulation et de fibrinolyse, contribuant à la hausse de la morbidité et la mortalité. La détermination de la dysfonction hémostatique dans les voies intrinsèques, extrinsèque et normale s'effectue principalement grâce à des évaluations cliniques et de laboratoire qui composent l'examen de la coagulogramme. Peu de publications en médecine vétérinaire au sujet de l'incidence et les modifications physiopathologiques backticks dans le sang des animaux septiques. Pour caractériser la prévalence des troubles du système hémostatique chez les chiens ayant pyomètre et le SRIS (patients septiques) à travers l'examen de la coagulogramme. La reconnaissance des groupes à risque contribue à la création rapide de nouvelles procédures afin d'éviter ou de minimiser les éventuels dysfonctionnements du système de coagulation et / ou fibrinolytique. Le document décrit la physiopathologie du pyomètre, le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS) et la septicémie, et décrit le système hémostatique. Le Chapitre 1 décrit l'évolution historique et temporelle des connaissances scientifiques sur la coagulation et de fibrinolyse, ainsi que la recherche et l'intégration des paradigmes de la relation avec le système inflammatoire. Le Chapitre 2 décrit les résultats des recherches en comparant les tests de coagulation entre les chiens atteints de pyomètre et le SRIS et le groupe contrôle (en santé). Statistiquement, il y avait de différence de le temps de thromboplastine partielle entre des chiens sains et malades. Malgré l'absence de différence statistique ($p > 0,05$) dans les autres essais, d'importants résultats individuels dans les deux groupes n'a été observée. Les résultats soulignent la nécessité d'inclure le coagulogramme comme un test pour une utilisation courante à l'hôpital vétérinaire chez les chiennes avec pyomètre et saine. Dysfonction hémostatique possibles favorisant la thrombose (état d'hypercoagulabilité) n'ont pas été évidents à le coagulogramme parce que cela est composé de tests qui évaluent principalement des états hypocoagulable.

Mots-clés: Coagulation. L'inflammation. Sepsis. L'hémostase. Fibrinolyse

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – FISIOPATOLOGIA DA PIOMETRA E OS MECANISMOS DA INFLAMAÇÃO.....	24
QUADRO 1 – CRITÉRIOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA EM CÃES.....	25
FIGURA 2 – HEMOSTASIA SECUNDÁRIA E AS VIAS DA COAGULAÇÃO SANGUÍNEA.....	30
FIGURA 3 – FASES DA COAGULAÇÃO SEGUNDO O MODELO CELULAR.....	36
QUADRO 2 – VALORES DE REFERÊNCIA DOS EXAMES QUANTITATIVO E SEMI – QUANTITATIVO DA PLAQUETOMETRIA EM CÃES.....	39
QUADRO 3 – VALORES DE REFERÊNCIA DOS EXAMES BÁSICOS DA COAGULAÇÃO EM CÃES.....	42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DADOS DEMOGRÁFICOS INDIVIDUAIS DOS CÃES SADIOS (GRUPO CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (GRUPO DOENTE).....	71
TABELA 2 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS CRITÉRIOS CLÍNICOS DE INCLUSÃO NA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS GRUPOS DE CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	75
TABELA 3 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS RESULTADOS DOS EXAMES DE HEMOGRAMA, PLAQUETOMETRIA E FIBRINOGENEMIA EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	76
TABELA 4 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS RESULTADOS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS REALIZADOS EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	78
TABELA 5 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS RESULTADOS DOS EXAMES DE COAGULAÇÃO REALIZADOS EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	80
TABELA 6 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS CRITÉRIOS CLÍNICOS DE INCLUSÃO NA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS GRUPOS DE CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	89
TABELA 7 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE HEMOGRAMA (ERITROGRAMA) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	89

TABELA 8 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE HEMOGRAMA (LEUCOGRAMA) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	90
--	----

TABELA 9 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS (PRIMEIRA PARTE) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	91
---	----

TABELA 10 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS (SEGUNDA PARTE) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	91
---	----

TABELA 11 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE FIBRINOGENEMIA, TEMPO DE COAGULAÇÃO ATIVADA E PLAQUETOMETRIA EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	92
---	----

TABELA 12 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE TEMPO DE SANGRAMENTO DE MUCOSA, TEMPO DE PROTROMBINA E TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA (COAGULOGAMA) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE).....	93
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 PIOMETRA – DEFINIÇÃO E ORIGEM.....	16
2.2 DIAGNÓSTICO.....	17
2.3 FISIOPATOLOGIA DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS.....	19
2.4 TRATAMENTO.....	21
2.5 SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA.....	22
2.6 SEPSE.....	25
2.7 SISTEMA HEMOSTÁTICO.....	28
2.7.1 Coagulação.....	29
2.7.2 Fibrinólise.....	32
2.7.3 O modelo celular da coagulação.....	34
2.7.4 Exames clínico-laboratoriais.....	38
3 REFERÊNCIAS.....	45
4 CAPÍTULO 1 – SUMÁRIO DO CAPÍTULO.....	50
4.1 TÍTULO.....	51
4.2 RESUMO.....	51
4.3 ABSTRACT.....	52
4.4 INTRODUÇÃO.....	53
4.5 DESENVOLVIMENTO.....	55
4.6 CONCLUSÃO.....	61
4.7 REFERÊNCIAS.....	62
5 CAPÍTULO 2 – SUMÁRIO DO CAPÍTULO.....	65
5.1 TÍTULO.....	66
5.2 RESUMO.....	66
5.3 ABSTRACT.....	67

5.4 INTRODUÇÃO.....	68
5.5 MATERIAL E MÉTODO.....	70
5.5.1 Pacientes	70
5.5.2 Critérios de inclusão	71
5.5.3 Coleta de amostra	72
5.5.4 Tempo de sangramento de mucosa	74
5.5.5 Análise estatística	74
5.6 RESULTADOS.....	74
5.7 DISCUSSÃO.....	80
5.8 CONCLUSÃO.....	84
5.9 REFERÊNCIAS.....	84
6.0 ANEXO.....	89

1 INTRODUÇÃO

Cadelas são conduzidas com frequência aos hospitais veterinários com enfermidades do sistema geniturinário, em particular com infecções uterinas ou a denominada piometra. Estes animais geralmente são encaminhados para intervenção cirúrgica de ovariectomia em caráter emergencial, onde comumente apresentam importantes alterações hemodinâmicas, de balanço energético e da imunidade humoral e celular.

Está bem determinado que as alterações sistêmicas provocadas pela piometra favorecem o estabelecimento da sepse, conceitualmente definida pela ocorrência da Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) associada à infecção.

A sepse é a principal causa de mortes em seres humanos e animais, onde a presença de endotoxemia com perda do equilíbrio entre os mediadores solúveis pró-inflamatórios e antiinflamatórios representa seu evento patofisiológico principal. O Neste sentido, a perda da homeostase do sistema hemostático (de coagulação e fibrinólise) está entre as mais importantes disfunções orgânicas presentes neste tipo de paciente.

A determinação da presença e natureza das disfunções hemostáticas no paciente séptico e cirúrgico sabidamente não é prática hospitalar difundida na esfera da medicina veterinária, podendo ser realizada por meio de diferentes exames pré-operatórios. As alternativas diagnósticas são testes *in vivo* e a coleta de materiais biológicos como sangue total, soro e plasma, para posteriores análises laboratoriais. Os exames de plaquetometria, fibrinogenemia, tempo de coagulação ativada, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, entre outros auxiliam a confirmação diagnóstica.

A caracterização da prevalência e evolução fisiopatológica dos distúrbios hemostáticos em cadelas com piometra sob estado séptico carece de estudos, fomentando a busca por mais informações para seu melhor entendimento. O reconhecimento dos grupos de risco contribui para a adoção precoce de novos

tratamentos e estudos a fim de se evitar ou minimizar possíveis disfunções do sistema de coagulação e/ou fibrinolítico.

O objetivo desta pesquisa foi caracterizar as alterações hemostáticas em cadelas com piometra e possível sepse por meio do coagulograma.

Inicialmente foi realizada uma revisão de literatura acerca da piometra, inflamação, síndrome da resposta inflamatória sistêmica, sepse e do sistema hemostático.

O Capítulo 1 descreve o histórico e evolução do conhecimento científico sobre a coagulação e fibrinólise, a atual caracterização sindrômica da inflamação, bem como as novas pesquisas e paradigmas acerca da relação do sistema hemostático com o sistema inflamatório.

O Capítulo 2 descreve os resultados da pesquisa por meio da análise estatística (teste – t de Student) dos exames realizados e comparação dos exames de coagulograma entre as cadelas com piometra e as sadias, confrontando os achados com o estado clínico e taxa de morbimortalidade nestas pacientes. Concomitantemente é discutida a prevalência das vias da coagulação com alterações nas cadelas com piometra, acrescido da comparação dos respectivos testes empregados e suas limitações.

As considerações finais são apresentadas no Capítulo 2, fazendo menção à rotina de avaliação do sistema hemostático inserida na prática hospitalar médico veterinária.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. PIOMETRA – DEFINIÇÃO E ORIGEM

A piometra é uma enfermidade do sistema reprodutivo causada por infecção bacteriana intra-uterina com acúmulo de pus em seu lúmen. Apresenta elevada possibilidade de evolução para quadros bactêremicos e toxêmicos, os quais variam de discretos a acentuados, e por consequência favorecem o óbito em virtude do acometimento multissistêmico progressivo (SMITH, 2006).

Sua etiopatogenia é imputada a fatores predisponentes como pseudociese, nuliparidade e, acredita-se que, principalmente, devido à presença de disfunção na fase do ciclo estral denominada diestro, a qual é mediada pela progesterona produzida no corpo lúteo ovariano (FOSSUM *et al.*, 2005). A progesterona em concentrações elevadas promove o crescimento e exocitose das glândulas endometriais (endométrio cístico), favorece a leucodiapedese com coexistente supressão leucocitária local e reduz a atividade miometrial de ação contrátil, responsável pela drenagem do conteúdo intra-uterino (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

A prevalência da piometra ocorre principalmente em cadelas que cronicamente apresentam a hiperplasia endometrial cística (HEC), pois os eventos fisiológicos repetidos e crônicos no interior do útero pela síntese ovariana prolongada (persistência de corpo lúteo cístico), ou mesmo por administração exógena da progesterona, predispõem essas pacientes para a piometra (VERSTEGEN; DHALIWAL; ONCLIN, 2008). Administrações exógenas de estrógeno com intuito preventivo da prenhez, igualmente favorecem infecção bacteriana intra-uterina, uma vez que este hormônio promove o aumento da concentração uterina de receptores progestágenos (BIGLIARDI *et al.*, 2004).

Não é observada predisposição racial, normalmente acometendo cadelas de meia idade a idade avançada, sobretudo aquelas acima de seis anos, porém fazendo-se também presente em cadelas com idade inferior, principalmente devido à administração exógena de estrogênio como método contraceptivo, tendo esta

população menores chances de desenvolvimento da hiperplasia endometrial cística (FOSSUM *et al.*, 2005; PRETZER, 2008).

A bactéria gram negativa *Escherichia coli* é a mais comumente observada em casos de piometra (59% a 96%) em virtude de sua maior afinidade (capacidade de adesão e fixação) pelo endométrio e miométrio (FALDYNA; LAZNICKA; TOMAN, 2001). Provavelmente as infecções intra-uterinas decorrem do oportunismo microbiano de origem vulvovaginal ou mesmo do trato urinário, uma vez que demais espécies bacterianas já foram isoladas e observadas, tais como, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Proteus*; todas presentes na microbiota vaginal de cadelas híginas, ou presentes em urocultura de cadelas concomitantemente acometidas por cistite (SMITH, 2006).

Cadelas com piometra podem apresentar evolução clínica diferenciada conforme a cérvix esteja desobstruída ou aberta, havendo drenagem vaginal do conteúdo uterino, ou cérvix obstruída ou fechada, impedindo a drenagem da secreção purulenta (FALDYNA; LAZNICKA; TOMAN, 2001). O acúmulo purulento intra-uterino, principalmente em cadelas com a cérvix fechada, pode induzir quadros de excessiva distensão, torção ou mesmo ruptura uterina, favorecendo a exsudação do conteúdo uterino para a cavidade peritoneal, geralmente agravando o estado geral dos animais, com rápida evolução para a peritonite e sepse (FOSSUM *et al.*, 2005; SLATTER, 2007).

2.2. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é realizado com a observação de prostração, hiporexia ou anorexia com consequente perda de peso, emese e/ou diarreia, aumento do volume abdominal, poliúria e polidipsia, bem como a presença de secreção vaginal purulenta ou piohemorrágica em casos de cérvix patente (VERSTEGEN; DHALIWAL; ONCLIN, 2008).

O aumento uterino à palpação abdominal juntamente com sinais clínicos de infecção são critérios diagnósticos ao exame físico. Dispneia, hipertermia ou

hipotermia, taquicardia e/ou arritmia, desidratação, aumento do volume de linfonodos, tempo de repleção capilar aumentado ou diminuído por déficit de perfusão ou congestão vascular periférica, respectivamente, mucosas hiperêmicas, alterações de pressão de pulso e presença ou ausência de corrimento vaginal piohemorrágico podem ser presenciados (ETTINGER; FELDMAN, 2004; PRETZER, 2008).

As cadelas podem apresentar choque séptico, evidenciado por extensa deterioração sistêmica como mucosas hipocoradas, extremidades frias, bradicardia, hipotermia e hipotensão, principalmente naquelas com apresentação clínica de cérvix fechada (SMITH, 2006). Devem ser descartadas as cadelas com mucometra, hemometra e hidrometra, as quais apresentam secreções intra-uterinas assépticas, com infecção vulvovaginal, prenhez, metrite, torção uterina e peritonite, sendo os principais diagnósticos diferenciais para a piometra (SLATTER, 2007).

De acordo com a evolução fisiopatológica desta enfermidade, os achados laboratoriais podem variar tanto no eritograma quanto no leucograma. Podem estar presentes a hipohemoglobinemia, as anemias regenerativas à arregenerativas normocíticas e normocrômicas, as leucocitoses neutrofílicas, os desvios nucleares de neutrófilos à esquerda (DNNE) regenerativos ou degenerativos com degenerações celulares, monocitose, linfopenia ou mesmo pacientes leucopênicos. (ETTINGER; FELDMAN, 2004; FOSSUM *et al.*, 2005).

Coagulopatias como, por exemplo, a coagulação intravascular disseminada, pode ocorrer em pacientes graves. No exame de coagulograma (tempo de sangramento de mucosa oral, tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada) podem ser observados consequentemente, aumentos nos tempos de coagulação. A ativação da coagulação por sua vez, promove importantes reduções nos valores da contagem plaquetária (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Na bioquímica sérica pode ser observado o aumento do nível uréico sanguíneo, a hiperproteinemia e globulinemia, elevação das enzimas séricas hepáticas fosfatase alcalina e alanina aminotransferase e redução dos níveis séricos de albumina. Também podem ser observadas no exame de urinálise ou de elementos anormais e sedimentoscopia a isostenúria ou hipostenúria, a proteinúria, piúria e hematúria. A acidose metabólica é o distúrbio ácido-básico primário em

cadelas com piometra (FOSSUM *et al.*, 2005; VERSTEGEN; DHALIWAL; ONCLIN, 2008).

Os exames de imagem de escolha são o radiográfico e o ultrassonográfico, pois permitem a observação do acúmulo de líquido no interior do útero. Atualmente o exame de ultrassom abdominal é o diagnóstico por imagem prioritário, uma vez que possibilita a determinação do tamanho do útero, a espessura das camadas uterinas, a presença do acúmulo de líquido intra-uterino e possíveis processos mórbidos evolutivos tais como a peritonite. A ultrassonografia, portanto, permite a possibilidade de comprovar a presença da piometra e diferenciá-la de seus possíveis diagnósticos diferenciais (BIGLIARDI *et al.*, 2004; ETTINGER; FELDMAN, 2004; SLATTER, 2007).

2.3. FISIOPATOLOGIA DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

A reação inflamatória desencadeada a partir da infecção, inicialmente localizada, evolui para o acometimento multi-orgânico, com alterações celulares e tissulares como aumento da permeabilidade vascular e favorecimento da leucodiapedese. Sob intensa quimiotaxia há importante perda ou redução do valor total de células sanguíneas, acrescido da redução decorrente da agressão e citólises pelo agente causador da infecção (KNOBEL, 2006; SLATTER, 2007).

A passagem das células sanguíneas para o interstício e a destruição celular crônica ativam os mecanismos de *feedback* para aceleração e liberação de células de origem medular com intuito da reposição e manutenção da resposta orgânica frente ao agente agressor. Podem ser observados consequentemente, por meio do leucograma, processos regenerativos e de aumentos celulares totais. Os aumentos celulares em valores absolutos transcorrem com ação inicial e principal pelas células fagocitárias (neutrófilos e monócitos) também incitadas pelas alterações humorais (THRALL, 2006). Infecções crônicas, por sua vez, favorecem a evolução para processos degenerativos, onde as contagens celulares de eritrograma e leucograma estão diminuídas e associadas à presença de células imaturas na circulação sanguínea (JAIN, 1993; SLATTER, 2007).

O intenso sequestro celular de linfócitos para o sítio de agressão tissular favorece a diminuição destas em valores absolutos. Pacientes sépticos crônicos com consequente disfunção multi-orgânica apresentam reduções drásticas dos valores absolutos de linfócitos, determinando uma marcada imunossupressão (FALDYNA; LAZNICKA; TOMAN, 2001).

Os imunocomplexos (ligações de epítomos dos antígenos às imunoglobulinas ou anticorpos) estão presentes em cadelas com piometra, onde os tecidos com alto grau de fluxo sanguíneo por unidade de massa tecidual, como o glomérulo renal, apresentam alto risco de disfunções por meio de seus depósitos (FALDYNA; LAZNICKA; TOMAN, 2001). A azotemia, as alterações da densidade urinária e as demais morbidades do trato urinário estão associadas à deposição de imunocomplexos com indução de glomerulopatias e disfunções tubulares (PRETZER, 2008).

O aumento sérico de enzimas hepáticas como a fosfatase alcalina e a alanina aminotransferase se devem as lesões hepatocelulares pelos efeitos tóxicos da endotoxemia, desidratação e alterações hemodinâmicas, acrescido a possíveis disfunções hepáticas da síntese e excreção de substâncias pelos hepatócitos ou mesmo da ação imunológica celular local (sistema histiolinfoplasmocitário ou das células de Kupffer) (FOSSUM *et al.*, 2005; ETTINGER; FELDMAN, 2004). É observado o aumento expressivo das imunoglobulinas com concomitante redução dos valores séricos da albumina pelo desencadeamento da resposta imune humoral do organismo (priorização orgânica da síntese de proteínas de fase aguda em processos inflamatórios) (SMITH, 2006).

Os animais com piometra também podem apresentar hiperglicemia inicial associada à ativação de eixo hipotálamo-pituitária-adrenais e consequente liberação de hormônios antiinsulínicos como catecolaminas, cortisol, glucagon e hormônio do crescimento, os quais favorecem a glicogenólise (ETTINGER; FELDMAN, 2004). A evolução da infecção e consequente sepse levam a um estado hiperdinâmico com grande gasto energético, promovendo quadros hipoglicêmicos devido ao esgotamento dos depósitos de glicogênio associado à incapacidade alimentar e metabólica de obtenção energética (HAGMAN, 2009).

O intenso afluxo plasmático para o interstício favorecido pelo aumento da permeabilidade vascular, associado às perdas de água corpórea, importantes variações na temperatura corporal e deterioração hemodinâmica do paciente favorecem a estase circulatória, o acúmulo celular na microvasculatura e sua consequente interação (KNOBEL, 2006). A interação plaquetária incita o processo de coagulação localizada com a formação inicial de trombina. A geração de fibrina desencadeada pela formação da trombina, no entanto, pode se estender sistemicamente em pacientes com disfunção ou ausência de controle do sistema hemostático (LAFORCADE *et al.*, 2003; HOPPER; BATEMAN, 2005).

2.4. TRATAMENTO

O protocolo terapêutico de escolha para a cadela com piometra consiste em intervenção cirúrgica de ovariectomia emergencial, independente do estado clínico do paciente (SLATTER, 2007). O quadro infeccioso localizado e/ou sistêmico é o principal fator desencadeador de importantes anormalidades metabólicas e síndromes como a da angústia respiratória aguda (SARA) e da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO), aumentando sobremaneira as taxas de morbimortalidade nestes animais (DECLUE; COHN, 2007; FRANSSON *et al.*, 2007). As cadelas com apresentação clínica de cérvix fechada, principalmente, devem ser prontamente encaminhadas para a cirurgia a fim de se evitar a evolução das alterações sistêmicas (SMITH, 2006).

O tratamento cirúrgico tem por vantagem a exclusão da possibilidade de recorrência da piometra, entretanto possuindo limites como o risco inerente ao ato anestésico e cirúrgico, assim como a possibilidade de rejeição ao tratamento pelos proprietários do animal. Condutas de tratamento conservativo foram desenvolvidas como medidas alternativas pela impossibilidade da intervenção cirúrgica, possuindo como vantagens, a possibilidade de manutenção da procriação e exclusão do risco anestésico e cirúrgico. O tratamento médico ou clínico é preconizado principalmente para cadelas metabolicamente estáveis e que possuem alto valor comercial (TRASCH; WEHREND; BOSTEDT, 2003).

Entre os diferentes tratamentos conservativos descritos para a piometra estão: o uso de prostaglandina $F_{2\alpha}$ em repetidas aplicações (ação luteolítica e uterotônica), a aplicação sistêmica de antibióticos concomitante ao uso de ocitocina (uterotônica) ou mesmo a utilização de antibioticoterapia sistêmica consorciada com substâncias de ação antiprogestágena (ligação competitiva aos receptores progestágenos favorecendo a dilatação da cérvix e a contração uterina). Os respectivos tratamentos evidenciaram ausência do aumento da taxa de sobrevivência e ocorrência de importantes efeitos colaterais (TRASCH; WEHREND; BOSTEDT, 2003; VERSTEGEN; DHALIWAL; ONCLIN, 2008).

2.5. SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA

A síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) é definida como sinais clínicos e laboratoriais de uma resposta inflamatória generalizada, possuindo como ponto comum e incitante, o processo de agressão endotelial por mecanismos diretos e indiretos (KNOBEL, 2006).

Toxinas liberadas a partir da membrana celular de bactérias gram negativas (também chamadas de endotoxinas), possuem efeito lesivo direto às células do organismo, principalmente às células endoteliais. Seu principal mecanismo de agressão sistêmica e endotelial, no entanto, é através da estimulação para a síntese e liberação das citocinas por meio das células mononucleares. As principais células responsáveis pelo mecanismo indireto de agressão endotelial são os monócitos, macrófagos e as células linfocíticas (KNOBEL, 2006; RAU *et al.*, 2007).

Por intermédio da ligação das endotoxinas aos receptores leucocitários CD14 e do tipo TL (*Toll like*) com consequente translocação do fator nuclear κB (NF κB), a ativação macrofágica em processos infecciosos, estimula a síntese de quimiocinas para a quimiotaxia de neutrófilos e monócitos, além de proporcionar posterior apresentação do antígeno aos linfócitos T. O intenso recrutamento celular, associado à formação de plasmócitos a partir dos linfócitos B (estimulada pelas células apresentadoras de antígeno), culmina em elevada síntese e exocitose das

citocinas inflamatórias em nível local e sistêmico (BRADY; OTTO, 2001; KNOBEL, 2006).

As interleucinas (IL-1, 6, 8 e 10), os fatores estimuladores de colônia, os fatores promotores de necrose tumoral (α e β) e os interferons (α , β e γ) são as principais citocinas imunologicamente responsáveis pelas alterações sistêmicas frente a uma agressão, dentre as diversas já descritas. Possuem composição glicoprotéica, ligando-se a receptores celulares específicos, induzindo a ativação celular e modulando a síntese para a liberação de outras citocinas (BRADY; OTTO, 2001; FRANSSON *et al.*, 2007).

A ativação endotelial pelas citocinas por meio dos receptores TLR-4 (*Toll-like*) desencadeia alterações fenotípicas determinando características pró-inflamatórias ao tecido endotelial. Moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina) são expressas para o meio intravascular permitindo a adesão, fixação e posterior migração de células inflamatórias circulantes para o sítio de infecção (KNOBEL, 2006). Alterações fenotípicas pró-trombóticas também são observadas em virtude da exposição do fator tecidual para o meio intravascular, associado à diminuição da expressão de moléculas anticoagulantes como a trombomodulina (TM) e o inibidor da via do fator tecidual (TFPI) (HOPPER; BATEMAN, 2005).

Outras substâncias presentes em síndromes inflamatórias proporcionam o agravamento das lesões às células e junções endoteliais, favorecendo o aumento da permeabilidade vascular e a perpetuação da resposta inflamatória. A elastase neutrofílica, o fator ativador plaquetário (PAF), o óxido nítrico – NO (sintetizado pela óxido nítrico sintetase induzida), as espécies reativas do oxigênio – ERO (radicais superóxido e hidroxila e o peróxido de hidrogênio) e os metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas e leucotrienos) contribuem sobremaneira para as alterações orgânicas de animais com inflamações sistêmicas (Figura 1) (BRADY; OTTO, 2001; KNOBEL 2006).

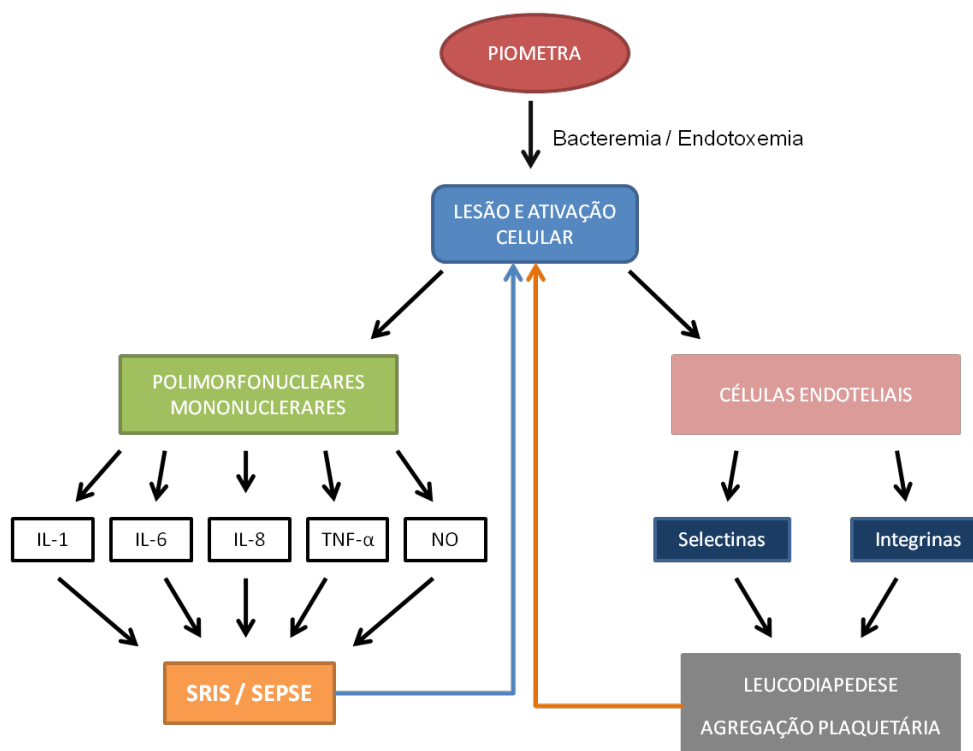


FIGURA 1 – FISIOPATOLOGIA DA PIOMETRA E OS MECANISMOS DA INFLAMAÇÃO

FONTE: O autor (2010)

Estados hiperdinâmicos, de hipóxia e isquemia (principalmente intestinal), graves disfunções orgânicas acometendo principalmente o coração, os rins, o fígado e os pulmões, assim como o déficit de excreção e consequente acúmulo de catabólitos foram evidenciados em seres humanos e animais com SRIS (BELLHORN; MACINTIRE, 2004; KNOBEL, 2006; HAGMAN *et al.*, 2009).

As alterações clínicas de cães com SRIS já foram descritas, entretanto, são dependentes de seu evento incitante. Foram observadas importantes alterações da frequência cardíaca e respiratória, normalmente com elevação das mesmas (porém com a bradipnéia também podendo ocorrer); presença de hipertermia ou hipotermia, alterações de comportamento (prostração à letargia), hiporexia, hipodipsia ou polidipsia. Outras apresentações clínicas como dor, diarreia ou emese, provavelmente estariam ligadas ao(s) evento(s) incitante(s) da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (HAUPTMAN; WALSHAW; OLIVIER, 1997; BRADY; OTTO, 2001).

Segundo Hauptman *et al.* (1997), os critérios de observações clínicas e laboratoriais para a inclusão de cães apresentando SRIS são: a frequência cardíaca e respiratória, a temperatura corporal periférica e a avaliação do leucograma. Os animais devem apresentar pelo menos dois parâmetros positivos para a sua inclusão. Os valores limítrofes são apresentados no Quadro 1 (HAUPTMAN; WALSHAW; OLIVIER, 1997).

CLÍNICOS		LABORATORIAIS	
FREQUÊNCIA CARDÍACA	> 120 bpm*	LEUCOMETRIA GLOBAL	
FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA	> 20 rpm**	< 6.000/μL	> 16.000/μL
TEMPERATURA CORPORAL	< 38,1°C ou > 39,2°C	NEUTRÓFILOS BASTONETES	> 3%

*bpm: Batimentos por minuto

**rpm: Respirações por minuto

QUADRO 1 – CRITÉRIOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA EM CÃES

FONTE: Hauptman *et al.* (1997)

O método desenvolvido por Hauptman *et al.* apresentou 97% de sensibilidade e 64% de especificidade para o diagnóstico da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (HAUPTMAN; WALSHAW; OLIVIER, 1997). Estas variáveis são as principais empregadas em atuais pesquisas que utilizam a avaliação clínica e laboratorial como métodos de suspeição / diagnóstico para cães portadores da síndrome (FRANSSON *et al.*, 2007; HAGMAN *et al.*, 2009).

2.6. SEPSE

A sepse é uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica que tem por evento incitante (fator etiológico) uma infecção, não sendo necessária a hemocultura

positiva (KNOBEL, 2006). É assinalada como a principal causa de mortes entre os seres humanos e os animais (RAU *et al.*, 2007).

As bactérias são as principais responsáveis pelo quadro séptico, pois possuem maior capacidade de ativação e resposta imunológica humoral e celular para a síntese e exocitose de citocinas. A sepse também pode ser desencadeada por outras afecções como a fungemia, viremia e parasitemia. A infecção por si só difere da sepse, pois nesta última são observadas alterações condizentes com repercussões sistêmicas de uma infecção localizada (BRADY; OTTO, 2001; RAU *et al.*, 2007).

O processo inflamatório sistêmico é exacerbado quando há infecção concomitante, contribuindo para o fenômeno de interdependência orgânica, onde a falência ou disfunção de um órgão é capaz de produzir a disfunção de vários outros (KNOBEL, 2006). As altas taxas de morbimortalidade em animais sépticos são principalmente imputadas à síndrome de disfunção de múltiplos órgãos (SDMO), sendo esta caracterizada pela disfunção aguda de dois ou mais órgãos (BRADY; OTTO, 2001).

As citocinas TNF- α , IL-1 e interferon- γ estão primariamente envolvidas na fisiopatologia da sepse, choque séptico e SDMO; são responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular, hipotensão arterial, estímulo para a síntese de proteínas de fase aguda, depressão de diversos sistemas enzimáticos e, principalmente, pela perpetuação da resposta inflamatória através da modulação para a síntese e liberação de outras moléculas inflamatórias (IL-6 e 8, NO, PAF e eicosanóides) (BRADY; OTTO, 2001; KNOBEL, 2006; RAU *et al.*, 2007).

O NO juntamente com o TNF- α , e a IL-1 possuem ação depressora sobre o miocárdio, provocando reduções perfusionais tissulares e inadequada oferta de oxigênio. Além da baixa contratilidade miocárdica culminando em baixo débito cardíaco, a hipóxia é agravada pela intensa hipovolemia relativa, desencadeada pelo aumento da permeabilidade vascular por ação do PAF e da IL-1. A perda volumétrica para o meio intersticial associada às perdas concomitantes por emeses, diarreias, taquipnéia e/ou poliúria, favorecem, juntamente com o aumento da capacitância venosa (ocasionada pelas altas concentrações de óxido nítrico), a

drástica redução do volume intravascular e da pré-carga (BRADY; OTTO, 2001; KNOBEL, 2006; MUIR, 2006).

A hipoperfusão e hipoxemia sistêmica favorecem o aumento da síntese e acúmulo do dióxido de carbono e ácido láctico (hiperlactatemia), estabelecendo a acidose metabólica e suas repercussões orgânicas como, por exemplo, no sistema cardiovascular com o favorecimento de arritmias e no nervoso central com alterações da atividade mental (MUIR, 2006; ALLEN; HOLM, 2008; HAGMAN *et al.*, 2009).

A transudação e exsudação de líquidos para o meio intersticial e cavidades corpóreas, culmina em efusões e no agravamento do quadro inflamatório através da ocorrência de pneumonias e/ou peritonites. O favorecimento da síndrome de isquemia/reperfusão, determinando a interação de ERO (principalmente os superóxidos) com o ferro sob estado férrico, contribui para o colapso vascular por meio da peroxidação lipídica de membranas e consequente indução de processos necróticos ou de morte celular por apoptose (KNOBEL, 2006).

No âmbito celular, a agressão ao aparato celular pelas moléculas inflamatórias associada à hipoxemia tecidual, culmina na incapacidade mitocondrial de utilização da molécula de oxigênio (metabolização oxidativa), estabelecendo o quadro de disóxia (MUIR, 2006). A ativação neutrofílica (amplificada pela ação da IL-8 e do leucotrieno B₄) determina a liberação de elastases, proteases, NO e ERO com o intuito da opsonização e destruição bacteriana. Estas substâncias, porém, também contribuem para a degradação da matriz extracelular, agressão à membrana lipídica e ao DNA celular, principalmente por ação das ERO e formação do peroxinitrito (KNOBEL, 2006).

Associado à hipoxemia e disóxia em nível celular e orgânico, o gasto energético basal encontra-se elevado em pacientes sépticos em virtude da resposta imune humoral (estado hipermetabólico). Fatores estimuladores de colônia e a IL-6 estimulam acentuadas multiplicações celulares, assim como a síntese de diversas proteínas presentes no processo inflamatório, como, por exemplo, as citocinas e quimiocinas (BRADY; OTTO, 2001).

Por meio dos fenômenos de compensação orgânica com ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais, liberação de catecolaminas e ação de substâncias

vasotrópicas locais, são observadas repercussões sistêmicas de dilatação ou constrição vascular, primordialmente em órgãos como o cérebro, o pulmão e o coração, além dos órgãos esplâncnicos (MUIR, 2006). A vasoconstrição e o aumento da permeabilidade vascular esplâncnica (também desencadeadas pelo tramboxano A_2) favorecem os processos de edema e isquemia intestinal, possibilitando a ocorrência de translocações bacterianas e perpetuação da sepse (BELLHORN; MACINTIRE, 2004).

O acometimento multi-orgânico progressivo em nível celular e sistêmico de animais sépticos culmina temporalmente na disfunção de múltiplos órgãos, sendo evidenciado por diversas alterações clínicas e de resultados laboratoriais (FRANSSON *et al.*, 2007). As diferentes síndromes caracterizadas estão correlacionadas aos possíveis órgãos e sistemas acometidos nestes pacientes. A síndrome da angústia respiratória aguda (SARA) e a coagulação intravascular disseminada (CID) estão comumente presentes na evolução da sepse, sendo igualmente responsáveis pela alta taxa mortalidade (MACHADO; SILVA; CARVALHO, 2004; DECLUE; COHN, 2007).

Em virtude do acometimento e disfunção multi-orgânica ocasionada pela sepse, altos custos e elevado tempo de internamento estão associados ao seu tratamento. É salientado, portanto, a necessidade do enfoque profilático diante daqueles animais inseridos em grupos de risco com o intuito de se evitar evoluções desfavoráveis (OTTO, 2007).

2.7. SISTEMA HEMOSTÁTICO

A hemostasia atua por meio de mecanismos constantes e estritos de manutenção da homeostase no organismo; tem por primordial função, a manutenção da fluidez sanguínea (principal propriedade do sangue), permitindo sua caracterização como um líquido cuja viscosidade é variável. A fluidez sanguínea proporciona permissividade de fluxo sanguíneo pelos leitos vasculares possibilitando o carreamento de substratos e catabólitos para o adequado funcionamento celular e orgânico (JAIN, 1993; GUYTON; HALL, 2006).

O sistema hemostático também é responsável pela interrupção do fluxo sanguíneo para o meio extravascular em processos hemorrágicos, utilizando-se da formação de tampões hemostáticos através da coagulação (THRALL, 2006). A posterior dissolução dos coágulos formados é realizada pelo sistema fibrinolítico, possibilitando a reperfusão sanguínea do tecido irrigado pela vasculatura acometida (JAIN, 1993; GUYTON; HALL, 2006).

2.7.1 Coagulação

O fenômeno fisiopatológico da coagulação é separado em hemostasia primária e secundária em virtude da abrangente trama de substâncias, moléculas e células envolvidas no processo de formação do coágulo estável de fibrina. Na hemostasia primária estão inseridas principalmente as atuações das plaquetas e células endoteliais, enquanto a hemostasia secundária é subdividida em vias extrínseca, intrínseca e comum, em virtude da ação dos diferentes fatores séricos da coagulação (JAIN, 1993; ETTINGER; FELDMAN, 2004).

A coagulação é iniciada por meio da hemostasia primária, sendo principalmente desencadeada pela agressão endotelial. A alteração estrutural do endotélio promove a modificação de sua característica antitrombótica por meio da mudança de sua carga negativa superficial e pela exposição para o meio intravascular de moléculas subendoteliais pró-coagulantes, como o fator de von Willebrand (fvW), colágeno, fibroblastos e o fator tecidual (TRIPLETT, 2000). A exposição de moléculas pró-coagulantes, acrescida a vasoconstrição local (promovida pela liberação de fatores vasotrópicos locais) desencadeia a adesão e ativação plaquetária local com posterior degranulação e alterações conformacionais para maior recrutamento e adesão plaquetária (GUYTON; HALL, 2006).

A hemostasia primária caracteriza-se pela rápida formação do agregado plaquetário (também denominado de “plug” plaquetário) com o intuito de agudamente encerrar perdas sanguíneas pelo endotélio vascular lesionado. O tampão hemostático formado pela coagulação primária, contudo, é insuficiente para a manutenção da hemostasia por períodos prolongados (THRALL, 2006).

É observada concomitantemente aos eventos da hemostasia primária, a síntese local de pequenas quantidades de trombina. Por meio da ação enzimática da trombina para a formação da fibrina a partir do fibrinogênio (evento primordial), a hemostasia secundária tem por finalidade, promover a formação local do coágulo estável de fibrina (ETTINGER; FELDMAN, 2004). Diferentes fatores de coagulação presentes no organismo possibilitam, através da hemostasia secundária, a interrupção prolongada da hemorragia para que ocorra a resolução da lesão desencadeadora do processo (JAIN, 1993).

A hemostasia secundária foi conceitualmente subdividida em vias em virtude das descobertas históricas dos diferentes fatores de coagulação que compõe o sistema hemostático, sendo atualmente utilizada sob caráter didático; são denominadas de via extrínseca, via intrínseca e via comum (Figura 2) (RIDDEL *et al.*, 2007).

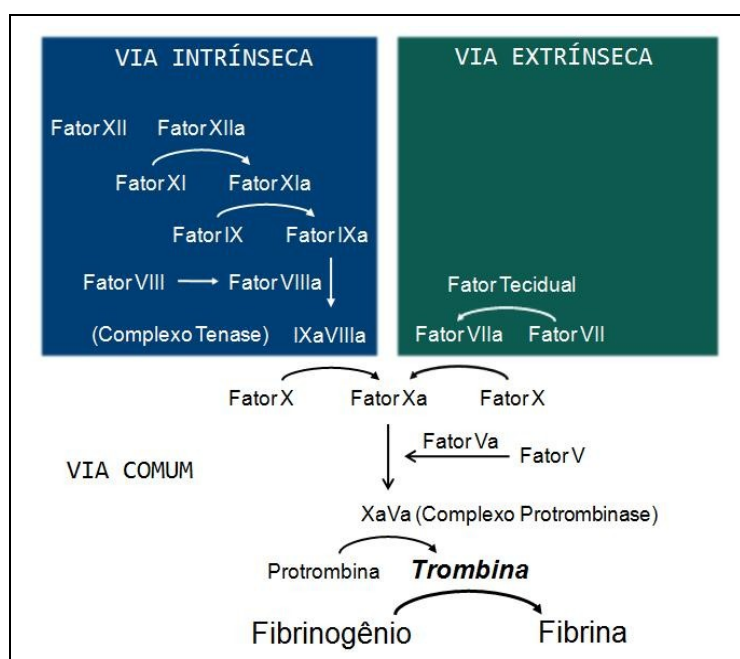


FIGURA 2 – HEMOSTASIA SECUNDÁRIA E AS VIAS DA COAGULAÇÃO SANGUÍNEA

FONTE: O autor (2010)

A via intrínseca é iniciada a partir da ativação do zimogênio (enzima inativa sintetizada nos hepatócitos) chamado fator de Hageman ou Fator XII (FXII) da coagulação. Foi assim denominada, pois os componentes responsáveis pela

formação da trombina, e consequentemente da fibrina, estão primordialmente presentes no interior (lúmen) dos leitos vasculares (VINE, 2009).

O contato do FXII com superfícies endoteliais lesionadas (sofrem modificações conformacionais com consequente desequilíbrio iônico, acrescido a exposição de moléculas pró-coagulantes) promove sua ativação e formação da enzima FXIIa (o “a minúsculo” determina a ativação do zimogênio); o fator FXIIa promove, com auxílio de outras substâncias como a calicreína, a precalicreína, a bradicinina e o cininogênio de alto peso molecular, a ativação de outro zimogênio, o fator XI em fator XIa, o qual, por sua vez, promove a ativação do fator IX em IXa (BECKER, 2005; RIDDEL *et al.*, 2007).

Por meio de uma pequena produção inicial da molécula de trombina ocorrida desde os momentos iniciais no processo hemostático há a ativação do fator VIII em VIIIa. A enzima VIIIa juntamente com a IXa incita a ativação do fator X da coagulação (FXa). A maioria dos processos de ativação dos fatores da coagulação ocorre nas membranas fosfolipídicas das plaquetas sob auxílio do cálcio ionizado (LICARI; KOVACIC, 2009).

Sob raciocínio oposto, a via extrínseca foi assim denominada, pois seu principal fator de coagulação, o fator tecidual, é presente no meio extravascular. É encontrado na adventícia de vasos sanguíneos, em cápsulas fibrosas de órgãos, no tecido epitelial e nas membranas mucosas. Após agressão às células endoteliais, o fator tecidual é exposto ao sangue circular onde este (sangue) apresenta pequena quantidade do fator VII já previamente ativado (FVIIa), permitindo sua interação com o fator tecidual. O acoplamento e formação do complexo fator tecidual – FVIIa inicia a via extrínseca da coagulação para a formação final do coágulo estável de fibrina (MACKMAN; TILLEY; KEY, 2007).

O complexo fator tecidual – FVIIa igualmente ativa o fator X em FXa na superfície fosfolipídica plaquetária com auxílio do cálcio, similar a via intrínseca, porém de maneira direta. A ativação do fator X em determinado momento por ambas as vias incitam a continuação do efeito cascata. A partir deste ponto a coagulação desenvolve-se de maneira igualitária, configurando a via comum (MACKMAN; TILLEY; KEY, 2007).

Com a presença do FXa na via comum, tem-se o posterior agrupamento e formação do complexo FXa com o FVa (FXa – FVa, também denominado de complexo protrombinase), culminando na conversão do zimogênio protrombina (fator II) em trombina (fator IIa). O fator V é ativado previamente pela trombina formada (similar a ativação do FVIII da via intrínseca) (VINE, 2009). A trombina promove a formação de monômeros solúveis de fibrina a partir do fibrinogênio sérico, sendo a conversão da fibrina em uma malha ou rede insolúvel (interpostas em ligações cruzadas) realizada por meio do fator XIIIa. A ativação do FXIII ocorre pela trombina previamente sintetizada no processo hemostático (LICARI; KOVACIC, 2009).

2.7.2 Fibrinólise

Uma vez iniciada a formação do tampão hemostático em sítios de lesão vascular, cabe ao sistema fibrinolítico manter o processo de modificação da viscosidade sanguínea isoladamente ao local de dano endotelial. O isolamento da fibrinólise previne a ocorrência de diáteses hemorrágicas sistêmicas e permite a evolução do processo de reparação tecidual pelo organismo (GUYTON; HALL, 2006).

O sistema fibrinolítico atua com a coagulação em nível local por meio da ação de diversas substâncias, principalmente por intermédio da proteína sérica produzida no fígado denominada de plasmina; através da degradação da fibrina insolúvel, a plasmina permite o restabelecimento da perfusão tecidual local (THRALL, 2006). Sinergicamente, a presença de moléculas protéicas anticoagulantes expressas nas membranas endoteliais (principalmente na microvasculatura), como a trombosmodulina e a inibidora da via do fator tecidual, evitam a síntese de coágulos distantes do leito agredido (VINE, 2009).

Entre as substâncias de controle e *feedback* no processo de formação do coágulo, o ativador de plasminogênio tecidual (AP-t) é o responsável pela conversão do plasminogênio em plasmina, sendo esta enzima sintetizada e exocitada pelas próprias células endoteliais (BECKER, 2005). Os produtos finais resultantes da degradação da fibrina insolúvel, divididos em Produtos da Degradação da Fibrina

(PDFs) e dímeros-D, são responsáveis, principalmente os primeiros, pela inibição das plaquetas e dos fatores de coagulação que se encontram ativados (promovem a formação de fibrina) (STOKOL, 2003).

A proteína C (a qual é cofator para a ativação e formação de complexo com a proteína S) é ativada pela ligação da trombina com a trombomodulina (expressa nas membranas endoteliais), propiciando a clivagem das enzimas FVa e FVIIIa e consequentemente prevenindo maiores gerações de trombina a partir da protrombina (HOFFMAN, 2003). De maneira similar, o inibidor da via do fator tecidual (TFPI) é responsável pela ligação irreversível as enzimas FXa, FVIIa e fator tecidual, impedindo concomitantemente a geração exacerbada de trombina (GOLINO, 2002).

A antitrombina, contudo, é a substância inibidora da formação do coágulo mais abundante no organismo; possui ação inibitória direta à molécula de trombina, assim como aos fatores IXa, Xa e XIa, atuando principalmente pela sua combinação ao heparan sulfato, expresso na membrana das células endoteliais. Possui grande importância para o controle do processo de coagulação no sítio endotelial agredido, impedindo a formação desnecessária e potencialmente prejudicial de coágulos em outros locais do organismo (LICARI; KOVACIC, 2009).

A própria fibrinólise desencadeia mecanismos de autocontrole pelo organismo simultaneamente ao processo de formação e isolamento do coágulo ao sítio de agressão vascular, prevenindo a fibrinólise sistêmica e consequente ocorrência de diáteses hemorrágicas desnecessárias (SMITH, 2009). O mecanismo contraregulatório da fibrinólise ocorre através do impedimento da síntese ou mesmo ação da molécula de plasmina, principal responsável pela degradação da fibrina (ETTINGER; FELDMAN, 2004; GUYTON; HALL, 2006).

As principais substâncias responsáveis pela inibição da fibrinólise são: o inibidor do ativador do plasminogênio-1 (inibe o ativador de plasminogênio tecidual), a α_2 -antiplasmina e a α_2 -macroglobulina; ambas as últimas atuam pela inibição direta a molécula de plasmina. A antiplasmina também interfere sobre a síntese de plasmina através do impedimento da ligação do plasminogênio à molécula de fibrina (evento necessário para que haja a conversão de plasminogênio em plasmina) (SMITH, 2009).

2.7.3 O modelo celular da coagulação

As caracterizações das vias extrínseca, intrínseca e comum da coagulação foram baseadas no decorrer dos anos em testes essencialmente laboratoriais, por meio de avaliações *in vitro* com a utilização do plasma sanguíneo. Esta metodologia permitiu estabelecer a sequência de passos enzimáticos que as compõe, onde se averiguou que a ativação de enzimas inativas ou substratos (também chamadas de zimogênios ou proenzimas) promovia a ativação sequencial de outras enzimas, culminando na formação da fibrina como produto final (RIDDEL *et al.*, 2007).

Com a determinação da característica sequencial de ativação enzimática estabeleceu-se o modelo de cascata da coagulação. O mesmo foi subdividido em vias específicas para a formação da fibrina de acordo com específicos zimogênios ou fatores plasmáticos da coagulação ativados, por meio de diferentes mecanismos incitantes (MONROE; HOFFMAN, 2006). Uma vez que o modelo de cascata foi baseado em testes *in vitro*, este persiste até os dias atuais como importante base científica para o entendimento das avaliações laboratoriais e o ensino científico (RIDDEL *et al.*, 2007).

Ainda no transcorrer das descobertas dos fatores de coagulação, por volta da década de 50, pesquisadores começaram a observar que determinados fatores de coagulação, quando ausentes, não implicavam em alterações *in vivo* compatíveis com o esperado, segundo os preceitos da teoria da cascata de coagulação. A deficiência dos principais fatores da via intrínseca (considerada a principal responsável pela formação da fibrina) como o FXII ou mesmo o cininogênio de alto peso molecular, não representavam tendência clínica a processos hemorrágicos em ratos e seres humanos. Em contrapartida, os aumentos nos tempos de coagulação *in vitro*, eram bem caracterizados pelas avaliações laboratoriais (HOFFMAN, 2003; MONROE; HOFFMAN, 2006).

Curiosamente, deficiências em outros fatores (FVIII e IX) também da via intrínseca, e que se encontram em etapas enzimáticas próximas a via comum, ou seja, na porção terminal da cascata de coagulação, culminavam em importantes tendências a processos hemorrágicos (caracterizadas posteriormente por Hemofilia A e B, respectivamente) (NAKATA, *et al.*, 2006; O'KELLEY *et al.*, 2009).

Sangramentos prolongados também foram observados em seres humanos e animais de laboratório quando na presença de via intrínseca funcional, porém com deficiência na enzima primária da via extrínseca (FVII) (HOFFMAN, 2003).

Por meio dos achados de alterações da coagulação *in vivo* naqueles indivíduos com diferentes deficiências dos fatores de coagulação, observou-se que provavelmente, as vias da cascata de coagulação não operavam independentemente, como era estipulado (MONROE; HOFFMAN, 2006). As análises laboratoriais serviram como base para a construção do modelo de cascata, porém havendo confronto de seus resultados pelas observações clínicas discrepantes. Diversos pesquisadores, portanto, iniciaram pesquisas priorizando o papel celular na fisiopatologia da coagulação e fibrinólise com o intuito do maior entendimento acerca dos resultados clínicos observados (BECKER, 2005).

O estudo e o desenvolvimento do modelo celular da coagulação permitiram o entendimento dinâmico das alterações *in vivo* do sistema hemostático em nível vascular através da ação das células endoteliais e suas características procoagulantes e anticoagulantes, acrescido a compreensão das ações de diversas outras células. Apesar das determinações das ações das enzimas da coagulação e suas interações no âmbito celular, este modelo também permitiu a incorporação de outras funções primárias destas enzimas em outros sistemas, como no sistema inflamatório e de proliferação celular (VINE, 2009).

Entre as diversas células atuantes na fisiopatologia coagulatória, salientam-se as células endoteliais, as plaquetas, os monócitos e as células as quais têm expressado em sua membrana o fator tecidual (células extravasculares). Como mecanismo regulatório constante, as células endoteliais se valem, naqueles indivíduos hígidos, de mecanismos prioritariamente anticoagulatórios por meio das expressões para o meio intravascular de moléculas como a trombosmodulina e o inibidor da via do fator tecidual (SMITH, 2009; VINE, 2009).

Quando há lesões vasculares, as células endoteliais expressam para o meio intravascular proteínas específicas (fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina; fisiologicamente localizadas na superfície interna da membrana), as quais proporcionam modificação estrutural da membrana, favorecendo o aumento na velocidade de determinadas reações da coagulação. À modificação estrutural

membranosa endotelial para o favorecimento da coagulação, denominou-se membrana procoagulante, onde sua descoberta permitiu a caracterização da capacidade do sistema vascular, através do endotélio, de promover o isolamento da coagulação no sítio de agressão (BECKER, 2005; SMITH, 2009).

De acordo com o modelo celular da coagulação as células promovem a síntese da fibrina insolúvel por meio de fases distintas, porém, sobrepostas (Figura 3). As fases foram subdivididas em fases de iniciação, fase de amplificação e fase de propagação, sendo as células endoteliais, as plaquetas e as células portadoras de fator tecidual (sob a forma de expressão membranosa ou mesmo em micropartículas) as principais fisiopatologicamente envolvidas (MACKMAN; TILLEY; KEY, 2007).

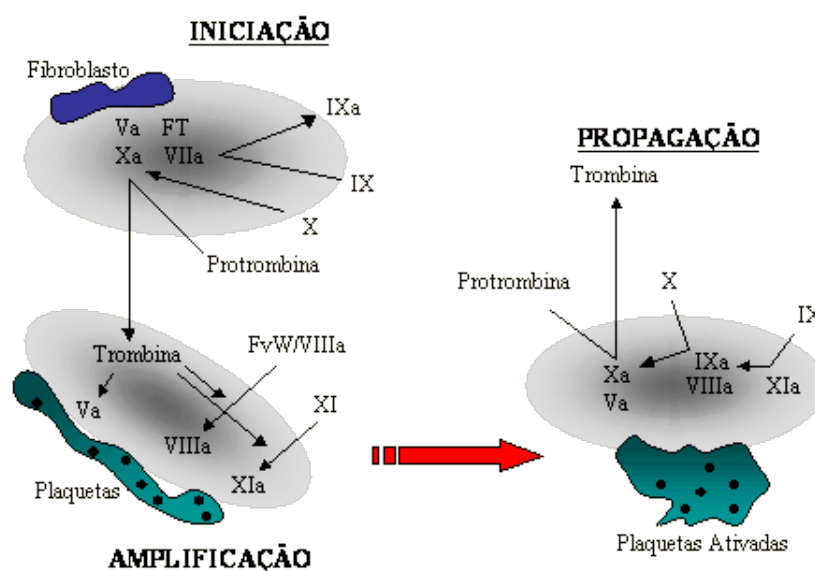


FIGURA 3 – FASES DA COAGULAÇÃO SEGUNDO O MODELO CELULAR

FONTE: Hoffman e Dougald (2001)

A fase de iniciação é representada a partir da agressão vascular pela qual permite o acesso das plaquetas e do fator de coagulação VIIa (ativado) ao meio extravascular (onde encontram-se células portadoras do fator tecidual). A enzima VIIa é o único fator de coagulação presente na circulação sanguínea já previamente e fisiologicamente ativado (corresponde a 1% de todo FVII presente na circulação); promove o início da coagulação somente quando entra em contato com o fator tecidual (DELGIUDICE; WHITE, 2009).

A partir da interação do FVIIa com o fator tecidual tem-se posterior ativação em pequenas proporções do FX em FXa e do FIX em FIXa, sendo o primeiro (FXa) responsável pela ativação do FV em FVa (MALÝ *et al.*, 2007). Imediatamente após a produção do FXa, a qual culmina na conversão de pequenas quantidades de trombina a partir da protrombina, esta enzima é inativada pela antitrombina e pelo inibidor da via do fator tecidual (TFPI) endoteliais, consequentemente restringindo a formação da fibrina no leito vascular agredido (GOLINO, 2002).

Contrariamente a inibição do FXa pela antitrombina e pelo TFPI, o FIXa não sofre inativação nas mesmas proporções e possui liberdade para difundir-se entre as superfícies plaquetárias e das demais células presentes (SMITH, 2009). A pequena quantidade de trombina produzida em associação aos fatores da coagulação ativados, irão posteriormente ativar as demais plaquetas presentes, caracterizando a fase de amplificação (LICARI; KOVACIC, 2009). Intensas alterações conformacionais plaquetárias ocorrem *a posteriori* possibilitando a ativação dos demais fatores (FV em FVa; FXI em FXIa) em maiores proporções e velocidade de reação enzimática. A ativação plaquetária também propicia a clivagem do fator de von Willebrand do FVIII, estabelecendo imediata adesão e agregação plaquetária no local acometido (BECKER, 2005; MONROE; HOFFMAN, 2006).

Com a liberação do FVIII após clivagem, o mesmo é ativado pela trombina circulante, possibilitando sua interação com o FIXa, previamente formado na fase de iniciação (FVIIIa-FIXa ou complexo tenase). O complexo tenase na superfície plaquetária tem por finalidade promover a ativação do FX em maiores proporções. A formação de grande quantidade da enzima Xa e consequente formação de trombina na superfície de plaquetas ativadas (impossibilitando a inativação desta enzima como ocorre na fase de iniciação) representa a última fase do modelo celular, chamada de fase de propagação (Figura 3) (LICARI; KOVACIC, 2009; SMITH, 2009).

O processo hemorrágico é definitivamente encerrado em virtude da malha de fibrina formada na fase de propagação, estabelecendo o tampão hemostático; a fibrina, inicialmente sob forma solúvel, espontaneamente sofre polimerização, resultando na matriz de filamentos insolúveis (BECKER, 2005). Como anteriormente caracterizado pelas vias do modelo de cascata de coagulação, o FXIII é ativado (FXIIIa) pela trombina formada. A enzima FXIIIa estabelece a formação das ligações

cruzadas entre os filamentos de fibrina, as quais são primordiais para as propriedades de força e elasticidade dos coágulos formados (VINE, 2009).

O enfoque celular acrescido ao confronto do modelo de cascata da coagulação permitiu a atual caracterização do fator tecidual (via extrínseca) como a principal molécula incitante do processo de coagulação no cenário clínico (RIDDEL *et al.*, 2007; WEISS; LAGES, 2008). As células endoteliais são as principais responsáveis pela manutenção da propriedade líquida do sangue e isolamento da síntese do coágulo estável de fibrina no sítio de lesão vascular, segundo o modelo celular da coagulação (SMITH, 2009). A ação anticoagulante fisiológica do endotélio se deve a presença de moléculas expressas em sua membrana como os proteoglicanos heparan sulfatados (sítio de ligação para a antitrombina), a trombomodulina e a molécula inibidora da via do fator tecidual (LICARI; KOVACIC, 2009).

2.7.4 Exames clínico–laboratoriais

Uma vez que o alicerce para o conhecimento acerca da coagulação foi baseado em avaliações e testes laboratoriais (*in vitro*), os respectivos testes consolidaram-se até o presente momento como fundamentais para a avaliação laboratorial de animais inseridos em grupo de risco ou com distúrbios hemorrágicos. O estabelecimento laboratorial das vias do modelo de cascata de coagulação representa, portanto, a base fundamental para o ensino científico e determinação de novos estudos clínico-laboratoriais (MONROE; HOFFMAN, 2006; RIDDEL *et al.*, 2007).

Os testes laboratoriais são subdivididos sob o mesmo preceito da divisão em hemostasia primária e secundária, sendo a primeira atuante, mediante a ação plaquetária e endotelial, e a segunda através dos fatores de coagulação (ETTINGER; FELDMAN, 2004). A avaliação laboratorial da hemostasia primária é determinada por meio do exame de plaquetometria ou contagem plaquetária (por método quantitativo ou semi-quantitativo). O resultado é confrontado com o valor de

referência pré-estabelecido, obtido através do compilado de resultados de animais sabidamente hígidos (QUADRO 2) (TRIPLETT, 2000; THRALL, 2006).

PLAQUETOMETRIA - CÃES	
MÉTODO QUANTITATIVO	200 – 500 x 10 ³ /mL de sangue*
MÉTODO SEMI - QUANTITATIVO	10 – 20 plaquetas / campo*

*Unidades

QUADRO 2 – VALORES DE REFERÊNCIA DOS EXAMES QUANTITATIVO E SEMI – QUANTITATIVO DA PLAQUETOMETRIA EM CÃES

FONTE: Thrall (2006)

A doença de von Willebrand (disfunção qualitativa ou quantitativa do fator de von willebrand – FvW) é classificada como a doença hemostática congênita mais comum em cães, representando importante disfunção da hemostasia primária (ETTINGER; FELDMAN, 2004). O FvW é a principal molécula responsável pela adesão e agregação plaquetária em momento inicial da ativação da coagulação por uma agressão vascular (formação do “plug” plaquetário). Diferentes formas de diagnóstico são disponíveis como métodos sorológicos de ELISA e análises multiméricas, porém realizado somente por laboratórios especializados (SMITH; DAY; MACKIN, 2005).

A averiguação de possíveis alterações da hemostasia secundária, decorrentes do déficit de algum fator da coagulação, é realizada através de diferentes exames, os quais estão de acordo com a via (extrínseca, intrínseca e comum) a ser avaliada (THRALL, 2006). O teste do tempo de coagulação ativada representa uma avaliação concomitante da via intrínseca e comum, pois o mesmo possui por preceito a ativação da coagulação mediante o contato do sangue em superfícies ativadoras do fator XII. É considerado um teste inespecífico, uma vez que somente em deficiências severas de fatores de coagulação ou plaquetas tem-se a ocorrência de resultados alterados (TRIPLETT, 2000; ETTINGER; FELDMAN, 2004).

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) também objetiva avaliar a via intrínseca e comum da coagulação. Apresenta maior sensibilidade para avaliá-las em comparação ao tempo de coagulação ativada, pois não apresenta alterações

de resultados decorrentes de uma trombocitopenia, assim como é acurado em casos de perda de 65% da atividade dos fatores de coagulação (SMITH; DAY; MACKIN, 2005). Ambos os testes (tempo de coagulação ativada e TTPa), quando alterados (representados pelo aumento no tempo de coagulação final de cada teste em relação aos valores de normalidade esperados para a espécie), representam prováveis deficiências qualitativas e/ou quantitativas nos fatores VIII, IX, XI e XII da coagulação (todos presentes na via intrínseca) (JAIN, 1993; KAMAL; TEFFERI; PRUTHI, 2007).

A avaliação da via extrínseca e comum é realizada por meio do exame de tempo de protrombina (TP). O TP é comumente feito em conjunção ao exame de TTPa para prover o máximo de informações acerca da cascata de coagulação (THRALL, 2006). Similarmente ao teste de TTPa, o tempo de protrombina não sofre interferência da trombocitopenia e apresenta prolongamentos de resultados decorrentes de uma perda de 65% da atividade dos fatores de coagulação (SMITH; DAY; MACKIN, 2005). Alterações quantitativas ou qualitativas dos fatores da via comum predis põem ao aumento dos tempos de coagulação de ambos os testes, uma vez que esta via é comum aos dois (JAIN, 1993).

Outras avaliações laboratoriais, como a dosagem dos níveis de fibrinogênio sérico (exame quantitativo), contribuem para o diagnóstico de distúrbios hemostáticos. A fibrinogenemia (realizada mediante precipitação protéica pelo calor), porém, pode apresentar pouca sensibilidade em casos de hipofibrinogenemia (SMITH; DAY; MACKIN, 2005). A avaliação qualitativa do fibrinogênio sérico é realizada por meio do teste de tempo de trombina (TT). Diminuições séricas do fibrinogênio (redução de síntese hepática ou aumento do consumo) ou disfibrinogenemias (alterações qualitativas moleculares) são representadas por aumentos do TT (LICARI; KOVACIC, 2009).

O tempo de trombina também permite a avaliação do sistema fibrinolítico, pois em situações de aumento do TT concomitante a concentrações normais do fibrinogênio sérico e ausência de disfibrinogenemias, avalia-se, por consequência, a ação da própria trombina (LICARI; KOVACIC, 2009). A reação de conversão do fibrinogênio em fibrina pela trombina sofre diminuição ou inibição por intermédio dos produtos de degradação da fibrina (PDFs) e/ou heparina através do aumento da

ação da antitrombina, representando a ocorrência de atividade antitrombótica (STOKOL, 2003).

A mensuração laboratorial dos níveis plasmáticos dos PDFs e dímeros-D por ocasião da degradação dos filamentos insolúveis de fibrina pela plasmina, representam a ocorrência de processo ativo do sistema fibrinolítico. Com exceção aos PDFs que são formados não apenas a partir da degradação da fibrina, mas devido à fibrinogenólise (sem a formação, portanto, do coágulo), a mensuração dos dímeros-D representa o resultado mais específico para a avaliação da presença de processos trombóticos com ativação acentuada da fibrinólise (STOKOL, 2003).

Os exames clínicos, mesmo que de maneira inespecífica, contribuem para a determinação de possíveis distúrbios do sistema hemostático. São representados pela avaliação e achados clínicos (petéquias, equimoses, sufusões, ou mesmo efusões hemorrágicas, por exemplo) e pelo tempo de sangramento de mucosa oral ou bucal (RIZZATTI; FRANCO, 2001; ETTINGER; FELDMAN, 2004). O exame de tempo de sangramento de mucosa oral representa a averiguação de alterações qualitativas plaquetárias e da parede vascular quanto a possíveis processos inflamatórios endoteliais, avaliando, portanto, a hemostasia primária, porém não sendo um exame de diagnóstico definitivo (TRIPLETT, 2000; KAMAL; TEFFERI; PRUTHI, 2007).

A sistemática de avaliação clínico-laboratorial em cães é direcionada inicialmente por meio do histórico clínico, acrescido à avaliação de possíveis distúrbios da hemostasia primária. A pesquisa clínica deve ser focada na possível presença de petéquias, equimoses e hematomas sob a pele ou mesmo casos de hifema e feridas com sangramentos prolongados (ETTINGER; FELDMAN, 2004; SMITH; DAY; MACKIN, 2005). Por meio de uma conduta padronizada, os exames de sangramento de mucosa oral e contagem plaquetária devem ser realizados posteriormente (RIZZATTI; FRANCO, 2001).

As disfunções hemostáticas provavelmente não são decorrentes da alteração quantitativa plaquetária em situações trombocitopênicas com valores entre $35 \text{ e } 50 \times 10^3$ plaquetas/mL de sangue, havendo a necessidade de realizar exame qualitativo por meio do tempo de sangramento de mucosa oral (SMITH; DAY; MACKIN, 2005). A primeira suspeita diagnóstica de disfunção da hemostasia

primária deve recair sobre a doença de von Willebrand, devendo ser excluída por meio de testes específicos. Em casos de testes de von Willebrand com resultados dentro da normalidade, exames adicionais específicos de função plaquetária devem ser solicitados (agregometria plaquetária) (JAIN, 1993; TRIPLETT, 2000; THRALL, 2006).

Animais com suspeita de disfunções da hemostasia secundária ou de ambas devem ser submetidos aos demais testes (tempo de coagulação ativada, TP e TTPa) para o favorecimento do diagnóstico. São considerados exames básicos ou ideais para pacientes com diáteses hemorrágicas, a feitura do hemograma com a plaquetometria (Quadro 2), do tempo de sangramento de mucosa e avaliação ou do tempo de coagulação ativada ou do TP juntamente com o TTPa (SMITH; DAY; MACKIN, 2005). Os exames de tempo de coagulação ativada ou TP com o TTPa devem ser priorizados quando houver suspeição de disfunção hemostática secundária (RIZZATTI; FRANCO, 2001; THRALL, 2006). No Quadro 3 são expostos os valores de referência dos exames básicos da coagulação em cães.

EXAMES BÁSICOS DE COAGULAÇÃO EM CÃES	VALORES DE REFERÊNCIA
TEMPO DE SANGRAMENTO DE MUCOSA	1,7 – 4,2 minutos*
TEMPO DE COAGULAÇÃO ATIVADA	3 – 12 minutos*
TEMPO DE PROTROMBINA	5,47 – 8,25 segundos*
TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA	13,5 – 16,7 segundos*

*Unidades

QUADRO 3 – VALORES DE REFERÊNCIA DOS EXAMES BÁSICOS DA COAGULAÇÃO EM CÃES

FONTE: Smith; Day; Mackin (2005); Thrall (2006)

Aumentos do tempo de coagulação ativada e/ou do TTPa, sem alterações no TP (em concomitância a normalidade da plaquetometria) são consistentes com déficits quantitativos e/ou qualitativos da via intrínseca da coagulação. Em cães, disfunções da via intrínseca normalmente estão atreladas ao sexo masculino e representam deficiências congênitas de fatores da coagulação. As deficiências mais comuns são as do fator VIII e IX, sendo as mesmas representadas pela Hemofilia

canina A e B, respectivamente (NAKATA, *et al.*, 2006; O'KELLEY; WHELAN; BROOKS, 2009).

O aumento de tempo de protrombina (TP) com os demais exames (plaquetometria, tempo de coagulação ativada e TTPa) dentro dos valores de normalidade, representa uma disfunção da via extrínseca da coagulação (TRIPLET, 2000). Déficits congênitos de fatores da via extrínseca (fator tecidual e FVII, por exemplo) são pouco comuns (SMITH; DAY; MACKIN, 2005). A principal afecção responsável por distúrbios da via extrínseca é a intoxicação por venenos raticidas, antagonistas da vitamina K, sendo o FVII um fator vitamina K – dependente. Os demais fatores da coagulação dependentes da vitamina K são os fatores II, IX e X (GUYTON; HALL, 2006; THRALL, 2006; DELGIUDICE; WHITE, 2009).

Alterações clínicas pela deficiência congênita de fatores da via comum, promovendo o aumento do tempo de coagulação ativada, TP e TTPa e com valores normais para a plaquetometria, são menos frequentes em relação à: depleção dos diversos fatores dependentes de vitamina K, importante disfunção hepática, coagulopatias de consumo, overdose de heparina ou excesso de produtos de degradação da fibrina no organismo (RIZZATTI; FRANCO, 2001; STOKOL, 2003; MACHADO; SILVA; CARVALHO, 2004).

Os testes para a verificação da presença de PDFs e/ou dímeros-D auxiliam no diagnóstico de animais com suspeitas de coagulopatias de consumo, como por exemplo, pela coagulação intravascular disseminada (CID). Diminuições no número plaquetário e aumento nos tempos de coagulação (tempo de coagulação ativada, TP e TTPa) fortemente indicam a coagulopatia de consumo ou mesmo doenças tromboembólicas (STOKOL, 2003).

Considerando que o desenvolvimento do modelo de cascata da coagulação foi elaborado por meio de testes *in vitro*, é claramente estabelecido que os mesmos são importantes determinantes em animais com deficiência na formação do coágulo estável de fibrina, ou seja, naqueles que apresentam essencialmente estados de hipocoagulabilidade (SMITH, 2009). Os respectivos testes que representam este modelo são principalmente o tempo de sangramento de mucosa, o tempo de coagulação ativada, o TP e o TTPa (DONAHUE; OTTO, 2005).

Reduções nos tempos de coagulação de exames como o TP e TTPa não são resultados consistentes ou confiáveis (preditores) da ocorrência de aumento sistêmico da coagulação (hipercoagulabilidade) e favorecimento de processos trombóticos (DONAHUE; OTTO; 2005). A caracterização indireta de possíveis afecções tromboembólicas é realizada mediante as dosagens dos PDFs e dímeros-D na circulação, uma vez que estes produtos são liberados por ação do sistema fibrinolítico em processos de coagulação ativa. Apesar do uso do teste de dímeros-D em humanos com suspeição de trombose venosa profunda ou mesmo tromboembolismo pulmonar, o respectivo exame é considerado de baixa especificidade, bem como, em animais, ainda existem poucas informações acerca do mesmo (STOKOL, 2003).

Com o advento do modelo celular da coagulação e determinação dos eventos *in vivo*, onde o mesmo atua mediante mecanismos sobrepostos e não isolados, pesquisas em seres humanos culminaram na elaboração do teste denominado de tromboelastografia. Diferentemente dos testes das vias da coagulação, o mesmo tem por finalidade avaliar todo o processo de coagulação, desde os momentos iniciais da formação do coágulo sanguíneo, até o seu encerramento pela fibrinólise (KRISTENSEN *et al.*, 2008; WAGG; BOYSEN; BÉDARD, 2009).

Por meio da estimulação da formação do coágulo de fibrina em um sistema informatizado, responsável pela captação gráfica da dinâmica de formação do mesmo, a tromboelastografia possibilita uma acurada avaliação *in vitro* em animais com afecções tromboembólicas por meio de um mecanismo direto (DONAHUE; OTTO; 2005; WAGG; BOYSEN; BÉDARD, 2009). Ainda em âmbito experimental, o exame de tromboelastografia surge para fortalecer e suplantar o conhecimento dos eventos hemostáticos em caráter dinâmico, assim como a compreensão das alterações fisiopatológicas das diversas enfermidades possivelmente responsáveis por importantes distúrbios de coagulação (NIELSEN *et al.*, 2007; KRISTENSEN *et al.*, 2008).

3 REFERÊNCIAS

ALLEN, S.; HOLM, J. L. Lactate: physiology and clinical utility. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 18, n. 2, p. 123-132, 2008.

BECKER, R. C. Cell-Based Models of Coagulation: A Paradigm in Evolution. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 20, n. 1, p. 65-68, 2005.

BELLHORN, T.; MACINTIRE, D. K. CE: Bacterial Translocation. **COMPENDIUM**, p. 229-236, 2004.

BIGLIARDI, E. *et al.* Ultrasonography and Cystic Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 39, p. 136-140, 2004.

BRADY, C. A.; OTTO, C. M. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. **Veterinary Clinics North of America**, v. 31, n. 6, p. 1147-1162, 2001.

DECLUE, A. E.; COHN, L. A. State-of-the-Art Review. Acute respiratory distress syndrome in dogs and cats: a review of clinical findings and pathophysiology. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p. 340-347, 2007.

DELGIUDICE, L. A.; WHITE, G. A. The role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in health and disease states. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 23-29, 2009.

DONAHUE, S. M.; OTTO, C. M. State-of-the-Art Review. Tromboelastography: a tool for measuring hypercoagulability, hypocoagulability, and fibrinolysis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 1, p. 9-16, 2005.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **TRATADO DE MEDICINA INTERNA VETERINÁRIA**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 162, p. 1632-1649. cap.179, p. 1915-1926. cap. 180, p. 1927-1940.

FALDYNA, M.; LAZNICKA, A.; TOMAN, M. Immunosuppression in bitches with pyometra. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, p. 5-10, 2001.

FOSSUM, T. W.; HEDLUNG, C. S.; HULSE, D. A.; JOHNSON, A. L.; SEIM, H. B.; WILLARD M. D.; CARROLL, G. L. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2ª ed. São Paulo: ROCA, 2005. cap. 28, p. 638-644.

FRANSSON, B. A. *et al.* Original Study: C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p. 373-381, 2007.

GOLINO, P. The inhibitors of the tissue factor: factor VII pathway. **Thrombosis Research**, v. 106, p. 257-265, 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11ª ed. Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2006. cap. 36, p. 457-468.

HAGMAN, R. *et al.* Blood lactate levels in 31 females dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 2, p. 1-9, 2009.

HAUPTMAN, J. G.; WALSHAW, R.; OLIVIER, N. B. Evaluation of the sensitivity and specificity and diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 26, n. 5, p. 393-397, 1997.

HOFFMAN, M.; DOUGALD, M. M. A cell-based model of hemostasis. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 85, p. 958-965, 2001.

HOFFMAN, M. Remodeling the Blood Coagulation Cascade. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 16, n. 1/2, p. 17-20, 2003.

HOPPER, K.; BATEMAN, S. State of the Art Review: An updated view of hemostasis: mechanisms of hemostatic dysfunction associated with sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 2, p. 83-91, 2005.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. 1ª ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 5, p. 82-104. cap. 6, p. 105-132.

KAMAL, A. H.; TEFFERI, A.; PRUTHI, R. K. How to Interpret and Pursue an Abnormal Prothrombin Time, Activated Partial Thromboplastin Time, and Bleeding Time in Adults. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 82, n. 7, p. 864-873, 2007.

KNOBEL, E. **Condutas no Paciente Grave**. 3^a ed. São Paulo: Atheneu, 2006. cap. 3, p. 41-60. cap. 4, p. 61-78. cap. 8, p. 143-150. cap. 17, p. 265-270. cap. 21, p. 323-338. cap. 22, p. 339-346. cap. 23, p. 347-368. cap. 24, p. 369-374.

KRISTENSEN, A. T. *et al.* Evaluation of human recombinant tissue factor-activated thromboelastography in 49 dogs with neoplasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 140-147, 2008.

LAFORCADE, A. M. *et al.* Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, p. 674-679, 2003.

LICARI, L. G.; KOVACIC, J. P. Thrombin physiology and pathophysiology. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 11-22, 2009.

MACHADO, F. R.; SILVA, E.; CARVALHO, W. B. CONSENSO BRASILEIRO DE SEPSE – PARTE II: Distúrbios da Coagulação. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 16, n. 3, p. 170-174, 2004.

MACKMAN, N.; TILLEY, R. E.; KEY, N. S. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 27, p. 1687-1693, 2007.

MALÝ, M. A. *et al.* The Role of Tissue Factor in Thrombosis and Hemostasis. **Physiology Research**, v. 56, p. 685-695, 2007.

MONROE, D. M.; HOFFMAN, M. What Does It Take to Make the Perfect Clot?. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, p. 41-48, 2006.

MUIR, W. Trauma: physiology, pathophysiology and clinical implications. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 16, n. 4, p. 253-263, 2006.

NAKATA, M.; SAKAI, M.; SAKAI, T. Hemophilia B in a crossbred Maltese Dog. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, n. 11, p. 1223-1224, 2006.

NIELSEN, V. G. *et al.* Qualitative thrombelastographic detection of tissue factor in human plasma. **Anesthesia & Analgesia**. v. 104, n. 1. p. 59-64, 2007.

O'KELLEY, B. M.; WHELAN, M. F.; BROOKS, M. B. Factor VIII inhibitors complicating treatment of postoperative bleeding in a dog with hemophilia A. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 4, p. 381-385, 2009.

OTTO, C. M. Guest Editorial: Sepsis in veterinary patients: what do we know and where can we go?. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p. 329-332, 2007.

PRETZER, S. D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. **Theriogenology**, v. 70, p. 359-363, 2008.

RAU, S. *et al.* Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response syndrome and sepsis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p. 253-260, 2007.

RIDDEL, J. P. *et al.* CE: Theories of Blood Coagulation. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, v. 24, n. 3, p. 123-131, 2007.

RIZZATTI, E. G.; FRANCO, R. F. Investigação Diagnóstica dos Distúrbios Hemorrágicos. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 34, p. 238-247, 2001.

SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ª ed. São Paulo: Manole, 2007. cap. 98, p. 1487-1502.

SMITH, F. O. Canine pyometra. **Theriogenology**, v. 66, p. 610-612, 2006.

SMITH, J. W.; DAY, T. K.; MACKIN, A. CE: Diagnosing Bleeding Disorders. **COMPENDIUM**, p. 828-843, 2005.

SMITH, S. A. The cell-based model of coagulation. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 3-10, 2009.

STOKOL, T. Plasma D-dimer for the diagnosis of thromboembolic disorders in dogs. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 33, p. 1419-1435, 2003.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed. São Paulo: ROCA, 2006. seção um, p. 1-51. seção dois. cap. 14, p. 170-187. seção quatro. cap. 26, p. 376-390.

TRASCH, K.; WEHREND, A.; BOSTEDT, H. Follow-up Examinations of Bitches after Conservative Treatment of Pyometra with the Antigestagen Aglepristone. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, p. 375-379, 2003.

TRIPLETT, D. A. Coagulation and Bleeding Disorders: Review and Update. **Clinical Chemistry**, v. 46, n. 8, p. 1260-1269, 2000.

VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, G.; ONCLIN, K. V. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**, v. 70, p. 364-374, 2008.

VINE, A. K. Recent advances in haemostasis and thrombosis. **RETINA**, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2009.

WAGG, C. R.; BOYSEN, S. R.; BÉDARD, C. Thrombelastography in dogs admitted to an intensive care unit. **Veterinary Clinical Pathology**, p. 1-9, 2009.

WEISS, H. J.; LAGES, B. Evidence for tissue factor-dependent activation of the classic extrinsic coagulation mechanism in blood obtained from bleeding time wounds. **BLOOD**, n. 71, p. 629-635, 2008.

4 CAPÍTULO 1 – SUMÁRIO DO CAPÍTULO

4.1 TÍTULO.....	51
4.2 RESUMO.....	51
4.3 ABSTRACT.....	52
4.4 INTRODUÇÃO.....	53
4.5 DESENVOLVIMENTO.....	55
4.6 CONCLUSÃO.....	61
4.7 REFERÊNCIAS.....	62

4.1 TÍTULO

COAGULAÇÃO E RESPOSTA INFLAMATÓRIA

(Coagulation and inflammatory response)

GONÇALVES, R.P.M.¹, WOUK, A. F. P. F.², DITTRICH, R. L.³, FILHO, I. R. B.⁴

¹ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR

² Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária – UFPR

³ Professora Adjunta do Departamento de Medicina Veterinária – UFPR

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária – UFPR

Endereço para correspondência: Rua dos Funcionários, nº 1540. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba, PR. CEP: 80035-050, Brasil. Fone: (041) 3350-5621. E-mail: rpaiva@ufpr.br

4.2 RESUMO

Responsável fundador pela disciplina que estudaria o sistema hemostático, em meados de 1843, o patologista francês Gabriel Andral (1797-1876), por meio de seu livro, já introduzira termos como *anaemia* e *hyperaemia*, assim como relatava condições patológicas intituladas *septicaemia* que cursavam com estados de “excessiva coagulação”. No decorrer dos séculos seguintes, o complexo sistema hemostático foi didaticamente dividido em vias intrínseca, extrínseca e comum, devido às condutas laboratoriais de descobertas *in vitro* dos fatores de coagulação, possibilitando avanços no entendimento de sua fisiologia e servindo como base para pesquisas atuais. As recentes técnicas investigatórias acerca do sistema hemostático salientam a compreensão fisiopatológica das alterações *in vivo*, embasadas pelo atual modelo celular da coagulação, bem como almejam correlacionar e demonstrar a interação da deflagração da coagulação com o sistema

inflamatório. Diversas observações por meio de pesquisas a partir do final do século 20 e início do século 21 reconhecem que a coagulação sanguínea e a inflamação possuem estrita inter-relação como parte da defesa do hospedeiro, fato este até pouco tempo entendido como processos fisiológicos completamente isolados.

Palavras-chave: hemostasia, fator tecidual, fibrinólise, inflamação, sepse

4.3 ABSTRACT

Founder of the discipline that study hemostatic system in mid-1843, the French pathologist Gabriel Andral (1797-1876), in his book, already introduced terms such as *anaemia* and *hyperaemia* as well as pathological conditions entitled *septicaemia* that lead to "excessive clotting-process". Over the centuries, the complex hemostatic system was didactically divided into intrinsic, extrinsic and common due to laboratory findings of *in vitro* clotting factors, enabling advances in the understanding of its physiology and serving as the basis for current research. Recent investigations on the haemostatic system emphasizes the understanding of pathophysiological changes *in vivo*, the model cell based coagulation and correlated target, and demonstrate the interaction of the outbreak of the coagulation with the system inflammation. Several observations by researchers between the end of the 20th century and early 21st century found out that the blood clotting and inflammation have strict inter-relationship as the defense of the host, facts that until recently were considered as completely isolated physiological processes.

Key words: hemostasis, tissue factor, fibrinolysis, inflammation, sepsis

4.4 INTRODUÇÃO

Os mecanismos hemostáticos estão envolvidos na proteção do organismo contra lesões desencadeadoras de hemorragias fatais. A interação entre plaquetas e fatores de coagulação resulta na gênese de tampões hemostáticos, reduzindo ou mesmo impedindo por consequência o fluxo sanguíneo pelo leito vascular lesionado (Ettinger; Feldman, 2004; Thrall, 2006). Contrabalançando este mecanismo fisiopatológico, o sistema fibrinolítico restaura a perfusão dos leitos vasculares ocluídos pelos tampões hemostáticos protetores, restaurando sua homeostase (Ettinger; Feldman, 2004; Thrall, 2006).

Didaticamente e historicamente separadas em vias extrínseca, intrínseca e comum, os sistemas de coagulação e fibrinólise podem ser ativados por componentes presentes no leito vascular (sangue) ou expressos em membranas celulares presentes no meio extravascular (Vine, 2009). O denominado fator XII ou de Hageman inicia a “via intrínseca”, assim como a ativação do complexo fator tecidual com o fator VII, caracteriza a “via extrínseca” da coagulação (Jain, 1993). Baseado no modelo “cascata” da coagulação a iniciação das duas vias culminam na ativação do fator X e a consequente geração do coágulo de fibrina por meio da denominada “via comum” (Jain, 1993; Thrall, 2006).

Embora tais conceitos representem significativo avanço no entendimento da coagulação, servindo por muitos anos como modelo, recentes estudos incorporam o papel celular na fisiopatologia hemostática, demonstrando que a hipótese da “cascata” de coagulação não reflete por completo os eventos hemostáticos no paciente *in vivo* (Monroe; Hoffman, 2006). Observações atuais têm confluído para conclusões que remetem a atividade do complexo fator tecidual / fator VII como sendo o principal e maior evento incitante do processo de coagulação e fibrinólise *in vivo* (Becker, 2005; DelGiudice; Withe, 2009).

Segundo o modelo celular da coagulação, o processo de coagulação sanguínea é iniciado a partir de uma agressão vascular com consequente exposição de plaquetas e proteínas da coagulação às células extravasculares que expressam constitutivamente em sua membrana o fator tecidual (células musculares lisas e fibroblastos) (Monroe; Hoffman, 2006; Smith, 2009). As células sanguíneas (leucócitos, células endoteliais) que apresentam o fator tecidual sob a forma de

micropartículas citosólicas e o expressam após sua ativação também representam mecanismos de iniciação da coagulação (Mackman *et al.*, 2007; DelGiudice; Withe, 2009).

Diversos mediadores inflamatórios, como as citocinas, lipoproteínas e os fatores de crescimento, fisiopatologicamente produzidos e liberados em pacientes humanos e veterinários com síndromes inflamatórias, agredem as junções endoteliais e estimulam a expressão do fator tecidual em células endoteliais, monócitos e neutrófilos circulantes (Esmon *et al.*, 1999; Mackman *et al.*, 2007; Schaer; Epstein, 2009). A agressão endotelial com exposição do fator tecidual inicia essencial papel em numerosas enfermidades, tais como a sepse, síndrome da angústia respiratória aguda (SARA) e aterosclerose, assim como, representa uma importante ligação entre o sistema de coagulação e o inflamatório (Hopper; Bateman; 2005; Declue; Cohn, 2007).

O aumento na concentração do fator tecidual concomitante à redução ou mesmo inibição de fatores antitrombóticos (principalmente a protease inibidora da via do fator tecidual) foram relatados em seres humanos e animais com síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) (Grignani; Maiolo, 2000; Pintão; Franco, 2001; Hopper; Bateman; 2005). A disfunção hemostática associada a estes pacientes é caracterizada pelo aumento do processo pró-coagulante e reduzida fibrinólise, culminando em disfunções e/ou falências orgânicas múltiplas decorrentes de trombozes microvasculares (Esmon *et al.*, 1999; McClintock *et al.*, 2008; Schaer; Epstein, 2009). As anormalidades hemostáticas, coletivamente conhecidas como coagulação intravascular disseminada (CID), são observadas frequentemente nestes pacientes, a qual tem diversas formas de evento incitante e clara relação interdependente bidirecional com o sistema inflamatório (Pintão; Franco, 2001; Machado *et al.*, 2004; Schaer; Epstein, 2009).

As caracterizações das ações celulares, segundo o modelo celular da coagulação, refletem com maior acurácia os processos hemostáticos *in vivo* e incorporam mais amplamente as interações deste sistema com outros também responsáveis pela defesa do organismo (Hoffman, 2003a; Becker, 2005; Monroe; Hoffman, 2006). Limitadas informações estão disponíveis acerca da evolução clínica e das disfunções hemostáticas em pacientes veterinários com síndromes inflamatórias sistêmicas, onde o maior entendimento do processo hemostático *in*

vivo possibilita maiores chances de diagnóstico e tratamento precoce (DelGiudice; Withe, 2009; Smith, 2009).

O presente artigo tem por objetivo rever a história da descoberta dos mecanismos fisiológicos da coagulação, descrever a evolução temporal do conhecimento e seus novos paradigmas, sua inserção na medicina veterinária, bem como discutir as atuais observações de sua interrelação com a resposta inflamatória.

4.5 DESENVOLVIMENTO

Inicialmente sem a correlação entre hemostasia e coagulabilidade, estudiosos como Hipócrates (377 a.C.), considerado o pai da Medicina, acreditavam que a cessação da hemorragia (modificação do estado físico de líquido para sólido) devia-se ao contato do sangue com o ar ambiente em temperaturas diminutas (Riddel *et al.*, 2007). Em 1720 o médico-cirurgião francês Jean-Louis Petit observou a formação de estrutura de consistência friável em veias e artérias daqueles pacientes que eram submetidos à amputação alta de membros inferiores, concatenando a relação de coagulação e hemostasia (Riddel *et al.*, 2007).

Os estudos iniciais sobre coagulação foram alavancados por meio da revolução microscópica na primeira metade do século 19 e o desenvolvimento da teoria celular. A microscopia permitiu a descoberta das células sanguíneas (dentre elas o corpúsculo incolor posteriormente denominado de plaqueta), assim como culminou na atribuição do termo *haemophilia* (inicialmente designado por *haemorrhaphilia*) pelo médico suíço Friedrich Hopff aos descendentes homens da família real inglesa em 1828 (Riddel *et al.*, 2007; Malone; Agutter, 2008).

Embora William Hewson (1739-1774) tenha sido anteriormente considerado o pai da hematologia, foi o patologista francês Gabriel Andral (1797-1876) quem fundou na Universidade de Paris a disciplina que estudaria o sistema hemostático (Malone; Agutter, 2008). Em meados de 1843 o mesmo patologista, por meio de seu livro (*Clinique médicale*), já introduzira termos como *anaemia* e *hyperaemia*, assim como relatava condições patológicas intituladas de *septicaemia* que cursavam com estados de “excessiva coagulação” (Malone; Agutter, 2008).

Na primeira metade do século 20, mais especificamente em 1905, é publicada a teoria da coagulação sanguínea pelo fisiologista alemão Paul Oskar Morawitz a qual permaneceu como paradigma intocado pelos 40 anos seguintes. Naquele momento acreditava-se que a formação de fibrina ocorria a partir de seu precursor fibrinogênio por intermédio da enzima trombina (Roberts, 2003; Riddel *et al.*, 2007). A trombina era convertida a partir da protrombina por ação do cálcio com a substância denominada de tromboquinase (possivelmente derivada de plaquetas ou de tecidos danificados), onde todos os componentes responsáveis pela coagulação estavam obrigatoriamente presentes na circulação sanguínea (Roberts, 2003; Riddel *et al.*, 2007).

Foi, porém, somente a partir da segunda metade do século 20, baseados em estudos essencialmente *in vitro* e caracterização dos fatores de coagulação, que o complexo sistema hemostático e a formação do coágulo estável de fibrina começaram a ser mais bem compreendidos por diversos pesquisadores pelo mundo (Malone; Agutter, 2008).

Em 1931 foi realizada a descoberta do primeiro fator da coagulação, então denominado pelo médico finlandês Erik Adolf von Willebrand como Fator de von Willebrand (Riddel *et al.*, 2007; Malone; Agutter, 2008). A descoberta deste e dos demais fatores da coagulação ocorreu de maneira similar no decorrer dos próximos anos, onde pacientes com hemorragia excessiva tinham seus sangues coletados e analisados laboratorialmente (métodos *in vitro*) pela adição sequencial dos fatores de coagulação já conhecidos e determinados (Roberts, 2003). Aqueles que não tinham, após a adição sequencial (por meio do plasma), ativação da cascata de coagulação e formação de coágulo estável, eram caracterizados como detentores da deficiência de um novo fator de coagulação, até o momento desconhecido (Roberts, 2003).

Sob esta dinâmica, os fatores descobertos eram nomeados de acordo com sua função na formação do coágulo ou com nomes daqueles que o descobriram (Smith, 2009). Uma vez descrito os diferentes fatores sanguíneos da coagulação e seus papéis na formação do coágulo estável de fibrina, a teoria clássica da coagulação descrita por Paul Morawitz começou a ser questionada (inicialmente pelo médico norueguês Paul Owren com a descoberta do fator V em 1947) (Roberts, 2003). Uma nova nomenclatura dos fatores de coagulação passou a utilizar números romanos

para designá-los com a intenção de facilitar sua intrincada interação, sendo a ordem dos mesmos, estabelecida de acordo com o ano de descoberta de cada fator (Vine, 2009).

Ainda na segunda metade do século 20 (mais precisamente em 1964), na considerada era de ouro da pesquisa sobre coagulação, dois distintos grupos de pesquisa liderados pelo Dr. Oscar Ratnoff e Dr. Robert Macfarlane publicaram na revista *Science e Nature*, respectivamente, sobre a hipótese da cascata de coagulação (Roberts, 2003; Becker, 2005). O modelo de cascata era definido e representado por uma série de etapas onde enzimas, em sua maioria na superfície da membrana celular e acrescidas de cálcio, clivavam subsequentemente determinadas proteínas, culminando na formação de fibrina (Hoffman, 2003b).

Descobertas laboratoriais demonstraram que os fatores da coagulação eram zimogênios (enzimas inativas no plasma sanguíneo ou pró-enzimas), os quais depois de ativados, eram sujeitos a mecanismos de “feedback”, configurando assim, um processo independente e redundante das diferentes vias da coagulação (Smith, 2009). A via intrínseca foi caracterizada como principal iniciadora da coagulação e assim denominada por possuir seus componentes exclusivamente no sangue, sendo iniciada por meio de contato do fator XII com superfícies negativas. A via extrínseca (possui sua proteína iniciadora, ou fator tecidual, fora da circulação sanguínea) seria iniciada pelo contato de elementos do sangue (proteínas da coagulação e células) com o meio extravascular. A ativação do fator X representaria um ponto em comum, caracterizando a denominada via comum e gerando a formação da fibrina (Hoffman, 2003b; Thrall, 2006).

Apesar do grande avanço no entendimento do sistema hemostático, inúmeros processos biológicos ainda permaneciam obscuros, como o papel celular na fisiopatologia da coagulação, os eventos incitantes da via extrínseca da coagulação, do sistema fibrinolítico e suas repercussões fisiopatológicas no organismo (Monroe; Hoffman, 2006; Smith, 2009). Em adição a descrição feita por Gabriel Andral em 1843, o Dr. Ratnoff relatou em 1971 que acreditava que os fatores da coagulação participavam na reação inflamatória, sendo este um dos mais importantes mecanismos de defesa do hospedeiro (Roberts, 2003).

Somente a partir do final do século 20 e início do século 21, novas metodologias de pesquisas laboratoriais incorporaram as funções celulares ao complexo sistema hemostático, originando o modelo celular da coagulação (Hoffman, 2003b). Diferentemente do modelo de cascata, o modelo celular foi dividido em fases que se sobrepõem chamadas: fase de iniciação, amplificação e propagação (Hoffman, 2003a; Vine, 2009). Este modelo permitiu a integração celular à fisiopatologia da coagulação caracterizando as células portadoras do fator tecidual e plaquetas como peças-chave para a formação de fibrina, assim como possibilitou demonstrar que o sistema hemostático está estritamente relacionado à resposta inflamatória como mecanismo de defesa (Hess *et al.*, 2008; DelGiudice; Withe, 2009).

A resposta inflamatória refere-se aos processos celulares e bioquímicos que ocorrem naqueles tecidos vascularizados em resposta a injúrias e/ou infecções, necessitando de uma interação coordenada entre células teciduais locais, mediadores plasmáticos, leucócitos e células endoteliais. Na tentativa de neutralizar ou eliminar o agente agressor são observadas alterações (sinais cardinais da inflamação) macroscópicas conhecidas há mais de 5.000 anos que incluem o tumor, rubor, calor e dor (Williams, 2007). As alterações microscópicas que explicam os mesmos são a vasodilatação e consequente maior afluxo sanguíneo local, aumento da permeabilidade vascular, favorecendo extravasamento plasmático para o meio intersticial e adesão leucocitária seguida por leucodiapedese para o sítio agredido (Thrall, 2006).

Modelos experimentais de animais induzidos a processos inflamatórios sistêmicos têm demonstrado que falências orgânicas estão associadas à ativação do sistema de coagulação mediada primariamente pela cascata inflamatória, uma vez que há estruturas homólogas entre as proteínas do sistema de complemento (inflamação) e proteínas da cascata de coagulação (Williams, 2007; Schaer; Epstein, 2009). Sinergicamente, a caracterização do fator tecidual (também denominado por fator III ou tromboplastina) como o mais importante iniciador da formação de trombina, colocando a via extrínseca como principal responsável iniciadora do processo de coagulação, reforça a ligação existente entre a inflamação e a coagulação como medidas de defesa do hospedeiro (Esmon *et al.*, 1999; Hopper; Bateman; 2005).

O fator tecidual, funcionalmente ativo na forma de glicoproteína capaz de atravessar a membrana celular, possui domínios citoplasmáticos e extracelulares. É encontrado em macrófagos extravasculares e fibroblastos, bem como, em altas concentrações na adventícia de vasos sanguíneos, cápsulas fibrosas de órgãos, epitélio e membranas mucosas (Mackman *et al.*, 2007; Malý *et al.*, 2007). Expresso em sítios com danos vasculares e/ou ativação celular, seu domínio extracelular liga-se ao fator VIIa (enzima ativa) presente no sangue circulante, gerando a formação de pequena quantidade de trombina, a qual é responsável pela quimiotaxia e ativação de outras células (DelGiudice; Withe, 2009).

Modificações na membrana fosfolipídica endotelial decorrem da agressão e ativação celular, favorecendo a translocação para o meio extracelular de fosfolipídios como a fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina. Estudos demonstram que estas propiciam características pró-coagulantes às membranas celulares (expressão da chamada membrana pró-coagulante), aumentando as velocidades de reações enzimáticas do sistema hemostático (Smith, 2009). Endotoxinas, imune-complexos e mediadores pró-inflamatórios como citocinas (fator de necrose tumoral- α , interleucina-1 e 6), lipoproteínas e fatores celulares de crescimento promovem agressão e ativação celular, estimulando a expressão do fator tecidual em células endoteliais, monócitos e neutrófilos (Malý *et al.*, 2007).

Da mesma forma que substâncias pró-inflamatórias estimulam a produção de trombina por meio da via extrínseca, estudos comprovam a interação bidirecional destes mecanismos de defesa, onde enzimas plasmáticas pró-coagulantes estimulariam o aumento da resposta inflamatória por ativação e indução celular para expressão de citocinas via receptores de proteases ativadas (PAR) (Williams, 2007; Licari; Kovacic, 2009). É bem caracterizada a ocorrência de vasoconstrição, aumento da permeabilidade vascular e produção de citocinas inflamatórias por estímulo as células endoteliais a partir da trombina (sendo a trombina atualmente considerada uma molécula pró-inflamatória), favorecendo a adesão e migração celular. Adicionalmente, plaquetas ativadas são importante origem de mediadores inflamatórios, pois secretam uma série de substâncias que promovem reação vascular, quimiotaxia leucocitária e ativação da célula endotelial (Esmon *et al.*, 1999; Licari; Kovacic, 2009).

Os testes laboratoriais de rotina da coagulação (tempo de tromboplastina parcial ativado – TTPa, tempo de protrombina – TP, contagem plaquetária, fibrinogenemia, tempo de sangramento *in vivo* e tempo de coagulação ativada) permanecem como principais meios diagnósticos para pacientes com distúrbios hemostáticos. Baseados no novo modelo celular da coagulação, onde a expressão celular do fator tecidual é o maior iniciador da hemostasia *in vivo*, porém, é clara a conceituação da característica didática e que expressa àquelas alterações *in vitro* (como foram desenvolvidos pelos pesquisadores ao longo dos anos) que estes exames representam (Donahue; Otto, 2005).

Exames mais acurados como a tromboelastografia, buscam avaliar dinamicamente alterações do sistema hemostático (hipercoagulabilidade ou hipocoagulabilidade) naqueles pacientes com síndromes inflamatórias sistêmicas. O mesmo surge para precisar as alterações da cascata de coagulação no paciente *in vivo*, favorecendo a acurácia do diagnóstico, o tratamento precoce e consequentemente a possibilidade de redução da taxa de morbimortalidade (Schaer; Epstein, 2009). Publicações recentes em medicina veterinária revelam, em estudos iniciais, os mesmos achados encontrados em seres humanos, onde pacientes com inflamação sistêmica desenvolvem hipercoagulabilidade (Machado *et al.*, 2004; Donahue; Otto, 2005).

A ampla ativação da coagulação é creditada primariamente pelo aumento da liberação de substâncias pró-coagulantes como o fator tecidual, a trombina e a fibrina. Concomitantemente a hipercoagulabilidade é favorecida pela inibição dos três maiores sistemas anticoagulantes do organismo: a proteína C ativada, a antitrombina e o inibidor da via do fator tecidual. Em associação, há supressão da fibrinólise por meio da diminuição do ativador de plasminogênio tecidual e aumento do inibidor do ativador de plasminogênio – 1 (Hopper; Bateman, 2005; Licari; Kovacic, 2009).

O sistema fibrinolítico é responsável pela limitação da formação do coágulo estável de fibrina no leito vascular agredido, permitindo o isolamento e posterior a perfusão tissular após remissão do processo inflamatório local. Atua por meio de substâncias anticoagulantes como a antitrombina (atribuída atualmente a efeitos

antiinflamatórios), o complexo proteína C – proteína S e inibidor da via do fator tecidual (Jain, 1993; Becker, 2005;).

Inevitavelmente após a agressão vascular, enzimas ativas da coagulação ganham a circulação, mas não encontram membranas pró-coagulantes para se ligarem, acoplando-se por fim aos anticoagulantes presentes nas superfícies endoteliais. Entre as moléculas anticoagulantes, a trombomodulina liga-se com a trombina, assim como o inibidor da via do fator tecidual (principal inibidor da via do fator tecidual) liga-se ao complexo fator tecidual / fator VIIa, ao fator Xa (via comum) e com a heparina, uma vez que este trata-se de uma serina protease multivalente (DelGiudice; Withe, 2009; Smith, 2009).

Como cofator da proteína S, a proteína C é ativada pela ligação da trombina com a trombomodulina inibindo a ação do fator Va e VIIIa, prevenindo maior produção de trombina. É bem determinada que a síntese e expressão de substâncias pró-coagulantes (fator tecidual) e antitrombóticas (trombomodulina, inibidor da via do fator tecidual) estão mais concentradas no território microvascular (Smith, 2009).

Historicamente pouco estudada em medicina veterinária, a fisiopatologia da coagulação atualmente vem sendo amplamente pesquisada com o objetivo principal de determinar os efeitos dinâmicos *in vivo* das alterações hemostáticas em animais com síndromes inflamatórias sistêmicas (Donahue; Otto, 2005; Hopper; Bateman, 2005; Schaer; Epstein, 2009).

4.6 CONCLUSÃO

Baseado nos fatos descritos em numerosos estudos no decorrer de décadas, o atual entendimento da estrita inter-relação entre o processo de coagulação, trombose e inflamação, enseja novas pesquisas, mas já possibilita meios diagnósticos mais precisos e tratamentos mais eficazes. Como a patofisiologia dos distúrbios da coagulação é similar no homem e nos animais, a medicina veterinária tem realizado cada vez mais pesquisas em parceria com a medicina com o intuito de melhor compreender as alterações dinâmicas da coagulação causadas por diversas

enfermidades que cursam com inflamação sistêmica para realizar diagnósticos precoces que resultem em tratamentos simples, racionais e eficazes.

4.7 REFERÊNCIAS

BECKER, R. C. Cell-Based Models of Coagulation: A Paradigm in Evolution. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 20, n. 1, p. 65 – 68, 2005.

DECLUE, A. E.; COHN, L. A. State-of-the-Art Review. Acute respiratory distress syndrome in dogs and cats: a review of clinical findings and pathophysiology. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p. 340 – 347, 2007.

DeGIUDICE, L. A.; WITHE, G. A. State-of-the-Art-Reviews. The role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in health and disease states. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 23 – 29, 2009.

DONAHUE, S. M.; OTTO, C. M. State-of-the-Art Review. Tromboelastography: a tool for measuring hypercoagulability, hypocoagulability, and fibrinolysis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 1, p. 9 – 16, 2005.

ESMON, C. T. *et al.* Inflammation, sepsis and coagulation. **Haematologica**, v. 84, p. 254 – 259, 1999.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **TRATADO DE MEDICINA INTERNA VETERINÁRIA**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap.179, p. 1915-1926. cap. 180, p. 1927-1940.

GRIGNANI, G.; MAIOLO, A. Cytokines and hemostasis. **Haematologica**, v. 85, p. 967 – 972, 2000.

HESS, J. R. *et al.* The Coagulopathy of Trauma: A review of Mechanisms. **The Journal of TRAUMA Injury, Infection, and Critical Care**, v. 65, n. 4, p. 748 – 754, 2008.

HOFFMAN, M. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIIa. **Blood Reviews**, v. 17, p. 1 – 5, 2003a.

HOFFMAN, M. Remodeling the Blood Coagulation Cascade. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 16, n. 1/2, p. 17 – 20, 2003b.

HOPPER, K.; BATEMAN, S. State of the Art Review: An updated view of hemostasis: mechanisms of hemostatic dysfunction associated with sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 2, p. 83 – 91, 2005.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. 1^a ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 5, p. 82-104. cap. 6, p. 105-132.

LICARI, L. G.; KOVACIC, J. P. State-of-the-Art-Reviews. Thrombin physiology and pathophysiology. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 11 – 22, 2009.

MACHADO, F. R.; SILVA, E.; CARVALHO, W. B. Distúrbios da Coagulação. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 16, n. 3, p. 170 – 174, 2004.

MACKMAN, N.; TILLEY, R. E.; KEY, N. S. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 27, p. 1687 – 1693, 2007.

MALONE, P. C.; AGUTTER, P. S. **The Aetiology of Deep Venous Thrombosis**. 1^a ed. New York: Springer, 2008. 318p. Chapter 2: The Coagulation Cascade and the Consensus Model of DVT, p. 11 – 29. Chapter 5: Coagulation and its Disorders: A History of Haematological Research, p. 57 – 70.

MALÝ, M. A. *et al.* The Role of Tissue Factor in Thrombosis and Hemostasis. **Physiology Research**, v. 56, p. 685 – 695, 2007.

McCLINTOCK, D. *et al.* Biomarkers of inflammation, coagulation and fibrinolysis predict mortality in acute lung injury. **Critical Care**, v. 12:R41, p. 1 – 8, 2008.

MONROE, D. M.; HOFFMAN, M. What Does It Take to Make the Perfect Clot?. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, p. 41 – 48, 2006.

PINTÃO, M. C. T.; FRANCO, R. F. Coagulação Intravascular Disseminada. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 34, p. 282 – 291, 2001.

RIDDEL, J. P. *et al.* CE: Theories of Blood Coagulation. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, v. 24, n. 3, p. 123 – 131, 2007.

ROBERTS, H. R. Historical Review; Oscar Ratnoff: His contributions to the golden era of coagulation research. **British Journal of Haematology**, v. 122, p. 180 – 192, 2003.

SCHAER, B. L. D.; EPSTEIN, K. State-of-the-Art Review. Coagulopathy of the critically ill equine patient. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 53 – 65, 2009.

SMITH, S. A. State-of-the-Art Review. The cell-based model of coagulation. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 3 – 10, 2009.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed. São Paulo: ROCA, 2006. seção um, p. 1-51. seção dois. cap. 12, p. 127-140. cap. 14, p. 170-187. seção quatro. cap. 26, p. 376-390.

VINE, A. K. Recent advances in haemostasis and thrombosis. **RETINA**, v. 29, n. 1, p. 1 – 7, 2009.

WILLIAMS, J. L. Focus: New directions in hemostasis and coagulation. Cross Talk Between The Inflammation and Coagulation Systems. **Clinical Laboratory Science**, v. 20, n. 4, p. 224 – 229, 2007.

5 CAPÍTULO 2 – SUMÁRIO DO CAPÍTULO

5.1 TÍTULO.....	66
5.2 RESUMO.....	66
5.3 ABSTRACT.....	67
5.4 INTRODUÇÃO.....	68
5.5 MATERIAL E MÉTODO.....	70
5.5.1 Pacientes	70
5.5.2 Critérios de inclusão	71
5.5.3 Coleta de amostra	72
5.5.4 Tempo de sangramento de mucosa	74
5.5.5 Análise estatística	74
5.6 RESULTADOS.....	74
5.7 DISCUSSÃO.....	80
5.8 CONCLUSÃO.....	84
5.9 REFERÊNCIAS.....	84
6.0 ANEXO.....	89

5.1 TÍTULO

COAGULOGRAMA EM CADELAS COM PIOMETRA E SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA (SRIS)

*(Coagulogram in bitches with pyometra and systemic inflammatory response
syndrome – SIRS)*

GONÇALVES, R.P.M.¹, WOUK, A. F. P. F.²

¹ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR

² Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária – UFPR

Endereço para correspondência: Rua dos Funcionários, nº 1540. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba, PR. CEP: 80035-050, Brasil. Fone: (041) 3350-5621. E-mail: rpaiva@ufpr.br

5.2 RESUMO

A piometra é uma enfermidade causada por infecção bacteriana intra-uterina com possibilidade de quadros bactêremicos e toxêmicos, sendo já determinado que suas repercussões sistêmicas favorecem a sepse. Conceitualmente definida pela ocorrência de uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) desencadeada por uma infecção, a sepse é a principal causa de mortes em animais. Os distúrbios hemostáticos estão entre os prováveis responsáveis pelas disfunções orgânicas e alta taxa de mortalidade nestes pacientes. A determinação da presença das disfunções hemostáticas em cadelas com piometra e SRIS não é prática hospitalar difundida na medicina veterinária, podendo ser realizada por meio de diferentes exames. O presente estudo objetivou caracterizar as alterações hemostáticas em cadelas com piometra e SRIS por meio de exames clínico-

laboratoriais que configuram o coagulograma. Os exames de plaquetometria, fibrinogenemia, tempo de coagulação ativada, de sangramento de mucosa, de protrombina e de tromboplastina parcial ativada foram avaliados em cadelas sadias e com piometra e SRIS. Estatisticamente observou-se diferença do tempo de tromboplastina parcial ativada entre as cadelas sadias e enfermas. Duas cadelas com piometra e SRIS apresentaram coagulação intravascular disseminada evidenciada pelo coagulograma e vieram a óbito. Os resultados encontrados salientam a necessidade de inclusão do coagulograma como exame a ser utilizado em cadelas com piometra.

Palavras-chave: coagulação, fibrinólise, endotoxemia, inflamação, sepse

5.3 ABSTRACT

Pyometra is a disorder caused by a bacterial infection in the uterus with the possibility of the development of a bacteremic and toxemic processes and, it has been already determined that its systemic repercussions favor sepsis. Conceptually defined as “the occurrence of a systemic inflammatory response syndrome (SIRS) triggered by an infection”, sepsis is the main cause of death in animals. The hemostatic disorders are likely the main reason for organ dysfunction and high mortality in this patients. The determination of the presence of a haemostatic dysfunction in dogs with pyometra and SIRS is not a hospital routine and can be performed by different tests. This study aimed to characterize the haemostatic abnormalities in dogs with pyometra and SIRS through clinical and laboratory tests that form the coagulogram. The platelets count, fibrinogenemia, activated clotting time, bleeding from mucosa, prothrombin and activated partial thromboplastin time

were evaluated in healthy dogs as well as in those that presented pyometra and SIRS. The results showed statistically significant difference in partial thromboplastin time between healthy and sick dogs. Two bitches presenting pyometra and SIRS showed disseminated intravascular coagulation evidenced by the coagulogram and died. These results highlight the importance of the inclusion of the coagulogram test in bitches with pyometra.

Key words: coagulation, fibrinolysis, endotoxemia, inflammation, sepsis

5.4 INTRODUÇÃO

Cadelas são conduzidas com frequência aos hospitais veterinários com enfermidades do sistema geniturinário, em particular com infecções uterinas ou a denominada piometra. Sua etiopatogenia se deve a infecção bacteriana intra-uterina com acúmulo de pus em seu lúmen acometendo principalmente cadelas que cronicamente apresentaram hiperplasia endometrial cística (HEC) em consequência da persistência de corpo lúteo cístico e produção contínua de progesterona. Não é observada predisposição racial, sendo principalmente prevalente em cadelas de meia idade a idade avançada, sobretudo aquelas acima de seis anos (Trasch *et al.*, 2003; Ettinger; Feldman, 2004; Fossum *et al.*, 2005; Smith, 2006; Pretzer, 2008).

Estes animais geralmente são encaminhados para intervenção cirúrgica de ovariectomia em caráter emergencial, onde comumente apresentam importantes alterações hemodinâmicas, de balanço energético e da imunidade humoral e celular devido à presença de bacteremia e toxemia. A bactéria gram negativa *Escherichia coli* é a mais comumente observada (59% a 96%), uma vez que possui maior afinidade (capacidade de adesão e fixação) pelo endométrio e miométrio, contribuindo com a elevada possibilidade de evolução para quadros bacterêmicos e toxêmicos e por consequência favorecendo o óbito em virtude do acometimento multissistêmico progressivo (Faldyna *et al.*, 2001; Trasch *et al.*, 2003; Smith, 2006; Slatter, 2007; Pretzer, 2008; Verstegen *et al.*, 2008).

Está bem determinado que as alterações sistêmicas provocadas pela piometra favorecem o estabelecimento da sepse, conceitualmente definida pela ocorrência de uma Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) desencadeada por uma infecção (Brady; Otto, 2001; Ettinger; Feldman, 2004; Knobel, 2006; Fransson *et al.*, 2007; Hagman *et al.*, 2009).

A sepse é a principal causa de mortes em seres humanos e animais, onde a presença de endotoxemia com perda do equilíbrio entre os mediadores solúveis pró-inflamatórios e antiinflamatórios representa seu evento patofisiológico principal. O desencadeamento multi-orgânico da perda da homeostase do sistema hemostático (de coagulação e fibrinólise) está entre as mais importantes disfunções orgânicas presentes neste tipo de paciente (Hopper; Bateman, 2005; Knobel, 2006; Otto, 2007; Rau *et al.*, 2007; Hagman *et al.*, 2009).

Recentes estudos salientam a existência da interrelação entre o sistema inflamatório e o sistema hemostático, sendo importante alvo de pesquisas em animais e seres humanos sépticos. A intensa agressão endotelial promovida pela inflamação sistêmica favorece ampla exposição do fator tecidual para o meio intravascular e consequente iniciação da coagulação segundo o modelo celular da coagulação. Os diversos mediadores inflamatórios (principalmente as citocinas) liberados desencadeiam o desequilíbrio entre o sistema de coagulação e fibrinólise, bem como de seus mecanismos contraregulatórios frente às agressões vasculares. Lesões e disfunções orgânicas presentes em animais e seres humanos sépticos favorecendo a síndrome de disfunção de múltiplos órgãos (SDMO) e o óbito são creditadas em grande parte à ocorrência de microtromboses vasculares (Hopper; Bateman, 2005; Fransson *et al.*, 2007; Rau *et al.*, 2007; Williams, 2007; Hess *et al.*, 2008; Smith, 2009).

A determinação da presença das disfunções hemostáticas no paciente séptico e cirúrgico sabidamente não é prática hospitalar difundida na esfera da medicina veterinária, podendo ser realizada por meio de diferentes exames pré-operatórios. As alternativas diagnósticas são testes *in vivo* e a coleta de materiais biológicos como sangue total, soro e plasma, para posteriores análises laboratoriais (testes *in vitro*). Os exames de plaquetometria, fibrinogenemia, tempo de coagulação ativada, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, entre outros

auxiliam a confirmação diagnóstica (Donahue; Otto, 2005; Smith *et al.*, 2005; Thrall, 2006).

A caracterização da prevalência e evolução fisiopatológica dos distúrbios hemostáticos em cadelas com piometra sob estado séptico carece de estudos, fomentando a busca por mais informações para seu melhor entendimento. O reconhecimento dos grupos de risco contribui para a adoção precoce de novos tratamentos e estudos a fim de se evitar ou minimizar possíveis disfunções do sistema de coagulação e/ou fibrinolítico.

O objetivo desta pesquisa foi caracterizar as alterações hemostáticas em cadelas com piometra e possível sepse por meio do coagulograma confrontando seus achados, com os resultados de cadelas sabidamente saudáveis.

5.5 MATERIAL E MÉTODO

5.5.1 Pacientes

Para esta pesquisa foram utilizadas 22 cadelas provenientes do serviço de atendimento clínico-cirúrgico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná (UFPR), da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC – PR) e da Universidade Tuiuti do Paraná (UTP). Os animais foram igualmente divididos em dois grupos distintos (11 animais em cada grupo), onde o primeiro grupo (Grupo Controle) foi formado por cadelas híginas, enquanto o segundo grupo (Grupo Doente) por cadelas com piometra e síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), todas submetidas à intervenção cirúrgica de ovariectomia. Não houve homogeneidade de raças, idade ou peso das cadelas utilizadas neste estudo; a Tabela 1 apresenta os dados demográficos de ambos os grupos.

TABELA 1 – DADOS DEMOGRÁFICOS INDIVIDUAIS DOS CÃES SADIOS (GRUPO CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (GRUPO DOENTE)

	GRUPO CONTROLE			GRUPO DOENTE		
	RAÇA	PESO (Kg)	IDADE	RAÇA	PESO (Kg)	IDADE
ANIMAL 1	SRD	7, 8	1 ano e meio	SRD	12,0	9 anos
ANIMAL 2	Lhasa Apso	7,5	1 ano e meio	Rottweiler	37,0	6 anos
ANIMAL 3	SRD	15,8	3 anos	Rottweiler	36,0	9 anos
ANIMAL 4	Poodle	7,0	4 anos	Fila	28,0	8 anos
ANIMAL 5	Poodle	6,4	4 anos	SRD	5,2	12 anos
ANIMAL 6	Poodle	9,8	2 anos	SRD	30,3	7 anos
ANIMAL 7	Bulldog	10,0	1 ano	Labrador	25,5	4 anos
ANIMAL 8	SRD	25,8	2 anos	SRD	6,8	3 anos
ANIMAL 9	SRD	26,7	2 anos	Rottweiler	34,7	2 anos
ANIMAL 10	SRD	13,9	7 anos	SRD	6,3	5 anos
ANIMAL 11	Beagle	10,5	8 meses	SRD	5,3	4 anos

FONTE: O autor.

5.5.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão para o Grupo Controle foram: 1) Confirmação verbal pelo(s) proprietário(s) da ausência de morbidade dos animais nas últimas 8 semanas; 2) Confirmação de hígidez por meio de avaliação clínica com a determinação de parâmetros fisiológicos como a frequência cardíaca e respiratória, temperatura retal, estado de hidratação, coloração de mucosas, tempo de repleção capilar e pulsação periférica (femoral); 3) Avaliação laboratorial de hemograma e bioquímica (uréia, creatinina, alanina aminotransferase, gama glutamil transferase, fosfatase alcalina, glicemia e proteínas totais e frações).

Os critérios de inclusão do Grupo Doente foram: 1) Comprovação clínica e

de imagem (ultrassonografia) da presença de piometra; 2) Suspeição clínica de sepse por meio dos critérios estabelecidos por Hauptman *et al.* (1997) para a presença de SRIS em cães (frequência cardíaca > 120 batimentos por minutos; frequência respiratória > 20 respirações por minuto; temperatura retal < 38,1°C ou > 39,2°C; leucometria global < 6.000/ μ L ou > 16.000/ μ L ou mais de 3% de neutrófilos bastonetes). Para inclusão no referido grupo o animal deveria ter pelo menos dois destes critérios acrescido à inexistência de qualquer tratamento medicamentoso prévio. Em ambos os grupos as cadelas deveriam possuir no mínimo 5 kg de peso, assim como todos os exames foram coletados somente de animais que não sofreram qualquer intervenção terapêutica prévia.

5.5.3 Coleta de amostra

As coletas de sangue foram realizadas por meio de venopunção jugular com prévio preparo local (depilação e desinfecção com iodopovidona e álcool a 70%) e inserção de cateter intravenoso (Nipro®) para a realização dos exames laboratoriais de hemograma, bioquímica e coagulograma, sendo divididas em duas etapas. A primeira etapa consistiu na coleta de sangue com a disposição de 1,8 mL de sangue em tubo citratado (BD Vacutainer® Sodium Citrate - 3,2%) para a realização dos testes de tempo de protrombina (TP) e de tromboplastina parcial ativada (TTPa), bem como a disposição de 3,0 mL de sangue em três tubos de hemólise (1,0mL em cada tubo) para a realização do exame de tempo de coagulação ativada (TCA). A cronometragem do TCA foi iniciada em exato momento do início da coleta de sangue e continuada em banho-maria a 37°C (Labstore®; Mod. N321) até o momento da coagulação do último tubo (momento do encerramento da cronometragem); os exames de TP e TTPa foram realizados por meio de coagulômetro (DRAKE®; Mod. Quick Timer) utilizando-se do plasma extraído decorrente da centrifugação (Fanem®; Mod. 206 – R) do sangue a 3.500 rpm durante 15 minutos, em no máximo 30 minutos após a coleta.

Para a determinação do TP, foram incubados 50 μ L de plasma em cubeta (cubeta 1) a 37°C por 5 minutos, a qual continha o misturador necessário para a realização do teste. Em outra cubeta (cubeta 2), adicionaram-se 100 μ L do reagente (TP CLOT – BIOS Diagnóstica®), sendo também incubada a 37°C por 5 minutos.

Após o tempo de incubação, 100 µL do reagente da cubeta 2 foram transferidos para a cubeta 1 com imediata leitura pelo coagulômetro (formação do coágulo de fibrina). Para a determinação do TTPa, foram incubados 50 µL de plasma e 50 µL do reagente (TTPa CLOT – BIOS Diagnóstica®) em cubeta (cubeta 3) a 37°C por 5 minutos, a qual continha o misturador necessário para a realização do teste. Em outra cubeta (cubeta 4), adicionaram-se 50 µL de cloreto de cálcio (TTPa CLOT – BIOS Diagnóstica®), também sendo incubado a 37°C por 5 minutos. Após o tempo de incubação foram transferidos 50 µL a solução da cubeta 4 para a cubeta 3 com imediata leitura pelo coagulômetro (formação do coágulo de fibrina).

Na segunda etapa realizou-se a coleta de 4,0 mL de sangue para disposição em tubos contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético – EDTA (Plastic BD Hemogard®) para a realização dos exames de hemograma, plaquetometria e dosagem de fibrinogênio. O hemograma foi realizado por método automatizado (Roche Hematology®; Mod. Abx) de contagens celulares e com diferenciação celular por meio da microscopia óptica de esfregaço sanguíneo corado com Panótico®; a plaquetometria fora realizada por meio de contagem em câmara de Neubauer (diluição de 20 µL de sangue em 1,98 mL de hidróxido de amônio a 10%) e confirmada no esfregaço sanguíneo pela estimativa em microscopia óptica; o fibrinogênio sérico foi mensurado em refratômetro (Biobrix®) após precipitação pelo calor (3 minutos à 56°C) em banho-maria (Labstore®; Mod. N321).

Também foram coletados e dispostos em tubos sem anticoagulante (Serum BD Hemogard®) 5 mL de sangue para a realização automatizada da mensuração dos exames bioquímicos (uréia, creatinina, alanina aminotransferase, gama glutamil transferase, fosfatase alcalina, glicemia e proteínas totais e frações) por método colorimétrico (DRAKE®; Mod. Quick Lab II). O valor correspondente à globulina foi obtido através da diferença entre os resultados da proteína total e da albumina. A obtenção de soro para as análises bioquímicas foi realizada através da centrifugação (Fanem®; Mod. 206 – R) do sangue a 3.000 rpm durante 5 minutos logo após a coleta.

A avaliação clínica, inclusão dos animais no estudo e obtenção do material biológico para os respectivos exames foram realizadas em momento único.

5.5.4 Tempo de sangramento de mucosa

O teste do tempo de sangramento *in vivo* foi efetuado anteriormente às coletas de sangue, sendo este o primeiro exame realizado. O mesmo foi realizado por meio de incisão em mucosa oral em região paralela aos dentes, incisivo e canino superior direito, após preparo do local. Foram utilizados digluconato de clorexidina a 0,12% para anti-sepsia local, gaze para contenção da saliva e dispositivo automatizado (Accu-Chek – ROCHE®) para a produção de incisão com 5 mm de dimensão. No momento da incisão o cronômetro foi acionado com concomitante absorção a cada 5 segundos do sangue extravasado por meio de papel de filtro (Melita®), porém sem que houvesse contato com a lesão. O cronômetro era interrompido imediatamente após a cessação do sangramento correspondendo ao tempo de sangramento.

5.5.5 Análise estatística

Os resultados são demonstrados por meio de estatística descritiva (porcentagem em valores aproximados e descrição tabular), assim como a análise estatística das medições clínicas e laboratoriais foi realizada empregando-se o teste – *t* de Student por meio do *software* Excel (Microsoft®), sendo os dados considerados significativos quando $p < 0,05$.

Esta pesquisa foi analisada e aprovada na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA SCA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR) sob protocolo número 024/2008.

5.6 RESULTADOS

De acordo com os resultados das avaliações clínicas de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corporal periférica, somente a frequência cardíaca apresentou diferença estatisticamente significante entre o grupo controle e o doente.

Sete animais (63%) do grupo doente (piometra e SRIS) apresentaram valores superiores a 120 bpm, enquanto no grupo controle este valor foi de 27% (três animais). Todos os animais (100%) do grupo doente e 81% do grupo controle apresentaram frequência respiratória acima de 20 rpm, respectivamente, acarretando em médias elevadas de ambos os grupos. Sete animais (63%) do grupo doente apresentaram temperaturas condizentes com os critérios estabelecidos por Hauptman *et al.* (1997), enquanto que todos os animais do grupo controle apresentaram valores normais da temperatura corpórea. A Tabela 2 apresenta as médias, os desvios padrões e o valor de *p* da avaliação clínica (frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal) de ambos os grupos.

TABELA 2 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS CRITÉRIOS CLÍNICOS DE INCLUSÃO NA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS GRUPOS DE CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO		Valor de <i>P</i> *
	GRUPO CONTROLE	GRUPO DOENTE	
FC	114,8 ± 17,2	134,0 ± 29,2	0,02
FR	36,0 ± 12,5	43,1 ± 14,3	0,06
T°C	38,8 ± 0,2	38,3 ± 1,1	0,12

Resultados estatisticamente significantes estão representados por valores de *P* em negrito

* Teste - *t* de Student

FC: Frequência cardíaca; FR: Frequência respiratória; T°C: Temperatura corporal periférica em graus Celsius

No exame laboratorial de hemograma, todos os resultados do eritrograma (total de eritrócitos, hematócrito, hemoglobinememia e concentração de hemoglobina globular média – CHGM), com exceção ao volume globular médio – VGM, apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre os dois grupos. Todos os animais (100%) do grupo controle apresentaram médias dos exames dentro dos valores de normalidade esperados para a espécie, enquanto o grupo doente apresentou médias inferiores aos valores de normalidade somente nos exames de hemoglobinememia e CHGM.

Similar ao observado no eritrograma dos animais do grupo controle, todos os resultados do leucograma (leucometria global – LG, total de segmentados neutrófilos, bastonetes e metamielócitos, linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos) apresentaram resultados (individuais e médias) dentro dos valores de normalidade. No grupo doente foram observadas médias acima dos valores de normalidade em quase todos os resultados, com exceção às médias das contagens celulares dos linfócitos, eosinófilos e basófilos, proporcionando ausência de diferença estatística ($p>0,05$) somente nestes últimos. Apesar da média em valores absolutos do segmentado metamielócito se apresentar elevada no grupo doente, não houve diferença significativa entre os grupos.

Entre os animais do grupo doente, 100% apresentaram resultados alterados da leucometria global, estando dois animais (18%) leucopênicos e nove animais (81%) com leucocitose. Nas contagens celulares de neutrófilos segmentados, bastonetes e metamielócitos os resultados alterados (aumento da contagem celular) ocorreram respectivamente em 63%, 100% e 9% dos animais.

Não houve diferença significativa na plaquetometria dos dois grupos estudados, porém sendo observado trombocitopenia em um animal (9%) do grupo controle e em sete animais (63%) do grupo doente. Ambas as médias se apresentaram dentro dos valores de normalidade. Na fibrinogenemia também houve resultados normais para as médias de ambos os grupos proporcionando ausência de diferença estatística. A Tabela 3 apresenta as médias, desvios padrões e nível de significância dos resultados dos exames de hemograma, plaquetometria e fibrinogenemia de ambos os grupos.

TABELA 3 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS RESULTADOS DOS EXAMES DE HEMOGRAMA, PLAQUETOMETRIA E FIBRINOGENEMIA EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

VALOR DE REFERÊNCIA*	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO		Valor de P^{**}
	GRUPO CONTROLE	GRUPO DOENTE	

ERITRÓCITOS	(5,5 - 8,5 milhões/ μ L)	7,3 \pm 0,8	6,0 \pm 1,4	0,01
HEMATÓCRITO	(37 - 55%)	49,8 \pm 4,4	37,5 \pm 7,3	<0,0001
HEMOGLOBINEMIA	(12 - 18g/dL)	16,5 \pm 2,2	11,3 \pm 2,3	<0,0001
VGM	(60 - 77 fL)	67,9 \pm 6,5	62,7 \pm 7,3	0,08
CHGM	(32 - 36%)	33,2 \pm 2,5	30,1 \pm 2,8	0,01
LEUCOMETRIA GLOBAL	(6.000 - 16.000/ μ L)	10366,6 \pm 1572,6	30691,6 \pm 31146,8	0,02
SEGMENTADOS	(3.000 - 11500/ μ L)	6647,6 \pm 1785,9	17529,5 \pm 19230,3	0,03
BASTONETES	(0 - 300/ μ L)	75,5 \pm 137,2	7343,8 \pm 9044,3	0,01
METAMIELÓCITOS	(0/ μ L)	0 \pm 0	55,1 \pm 155,2	0,17
LINFÓCITOS	(1.000 - 4.800/ μ L)	2646,0 \pm 1038,9	2114,4 \pm 1266,4	0,17
EOSINÓFILOS	(100 - 1.250/ μ L)	794,0 \pm 599,1	469,9 \pm 516,1	0,06
MONÓCITOS	(150 - 1.350/ μ L)	583,9 \pm 433,0	3162,0 \pm 4086,3	0,02
BASÓFILOS	(Raros/ μ L)	0 \pm 0	0 \pm 0	–
PLAQUETOMETRIA	(200.000 - 500.000/mL)	246,5 \pm 75,1	243,2 \pm 139,9	0,14
FIBRINOGENEMIA	(100 - 500mg/dL)	325,0 \pm 195,9	375,0 \pm 191,2	0,33

* FONTE: THRALL (2006).

** Teste - *t* de Student

Resultados estatisticamente significantes estão representados por valores de *P* em negrito

VGM: Volume globular médio; CHGM: Volume de hemoglobina globular média.

Os resultados encontrados nos exames bioquímicos de uréia e creatinina não apresentaram diferença estatística significativa entre os dois grupos. A média dos valores da creatinina dos animais do grupo doente, porém, apresentou-se acima do valor de referência para a espécie. Apesar de valores médios dentro da normalidade, três animais (27%) apresentaram uréia elevada, estando os mesmos também azotêmicos (creatinina elevada concomitantemente). Os animais do grupo controle apresentaram todos os resultados dentro dos valores de normalidade. Nos exames de alanina aminotransferase – ALT e fosfatase alcalina – FA foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos. Os resultados individuais e a média da ALT estiveram dentro da normalidade, porém houve expressiva média elevada da FA nos animais do grupo doente. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias dos resultados das dosagens de GGT, porém três (27%) e dois (18%) animais do grupo controle e doente, respectivamente apresentaram resultados elevados.

Foi observado hiperglicemia em um (9%) animal do grupo controle e em dois animais (18%) do grupo doente; dois animais apresentaram hipoglicemia no grupo doente, caracterizando, portanto, 45% do total (cinco animais) com alterações de resultados na glicemia, porém não existindo diferença significativa entre os dois grupos.

Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre todas as médias dos resultados dos exames de proteína total e frações (albumina e globulina), onde somente as médias da proteína total de ambos os grupos se apresentaram dentro dos limites esperados para a espécie. A hipoalbuminemia foi presente em oito animais (72%) do grupo doente e em nenhum animal do grupo controle.

As médias dos resultados da globulina apresentaram diminuição e aumento nos animais do grupo controle e doente respectivamente. Cinco animais (45%) do grupo controle apresentaram hipoglobulinemia, enquanto sete animais (63%) do grupo doente apresentaram hiperglobulinemia. A Tabela 4 apresenta as médias, desvios padrões e nível de significância dos exames bioquímicos utilizados neste estudo de ambos os grupos.

TABELA 4 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS RESULTADOS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS REALIZADOS EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

		MÉDIA ± DESVIO PADRÃO		Valor de P^{**}
	VALOR DE REFERÊNCIA*	GRUPO CONTROLE	GRUPO DOENTE	
ALBUMINA	(2,6 - 3,3g/dL)	3,4 ± 0,2	2,1 ± 0,6	<0,0001
ALT	(10 - 80UI/L)	60,5 ± 37,6	26,8 ± 15,1	0,01
CREATININA	(0,5 - 1,5mg/dL)	1,14 ± 0,17	1,6 ± 1,1	0,09
FA	(20 - 156UI/L)	66,9 ± 45,3	246,6 ± 144,3	0,001

GGT	(1,0 - 10UI/L)	8,8 ± 5,3	7,0 ± 6,3	0,2
GLICOSE	(60 - 110mg/dL)	94,8 ± 19,7	86,8 ± 20,6	0,24
GLOBULINA	(2,7 - 4,4g/dL)	2,6 ± 0,7	5,0 ± 1,2	<0,0001
PROTEÍNA TOTAL	(6,0 - 8,0g/dL)	6,0 ± 0,7	7,1 ± 1,0	0,001
URÉIA	(21,4 - 59,9mg/dL)	27,3 ± 15,8	42,3 ± 29,9	0,09

* FONTE: THRALL (2006); Laboratório de análises clínicas da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC – PR).

** Teste - *t* de Student

Resultados estatisticamente significantes estão representados por valores de *P* em negrito

ALT: Alanina aminotransferase; FA: Fosfatase alcalina; GGT: Gama glutamil transferase.

O tempo de coagulação ativada (TCA) não apresentou diferença estatística ($p>0,05$) entre os dois grupos, onde suas médias permaneceram com valores no intervalo de normalidade. Quatro animais (36%), porém, e um (9%) animal do grupo controle e doente, respectivamente, apresentaram aumento do tempo de coagulação.

Nenhum animal de ambos os grupos apresentou resultado acima do valor de referência para o teste do tempo de sangramento de mucosa, porém ocorrendo resultados abaixo do tempo mínimo para o referido teste. Seis animais (54%) do grupo controle, assim como oito animais (72%) do grupo doente apresentaram resultados inferiores ao limite mínimo para o teste; não houve diferença significativa entre os grupos.

Entre os exames de TP e TTPa, somente foi observada significância estatística no segundo ($p=0,001$) entre os dois grupos. Cinco animais (45%) apresentaram o TTPa elevado no grupo doente, enquanto nenhum animal apresentou resultado alterado no grupo controle. As médias de ambos os grupos, porém, se apresentaram dentro da normalidade para ambos os grupos.

Ambas as médias do exame de TP também permaneceram no intervalo de referência para a espécie, porém havendo um animal (9%) do grupo controle e quatro animais (36%) do grupo doente com elevação no resultado do TP. A Tabela 5 apresenta as médias e desvios padrões, bem como o nível de significância dos exames de coagulação entre os grupos controle e doente.

TABELA 5 – MÉDIA E DESVIOS PADRÕES DOS RESULTADOS DOS EXAMES DE COAGULAÇÃO REALIZADOS EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	VALOR DE REFERÊNCIA*	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO		Valor de <i>P</i> **
		GRUPO CONTROLE	GRUPO DOENTE	
TS DE MUCOSA	(1,7 - 4,4 minutos)	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,4	0,35
TCA	(3 - 12 minutos)	13,3 ± 6,6	9,1 ± 4,0	0,09
TP	(5,47 - 8,25 segundos)	8,0 ± 0,6	7,9 ± 1,1	0,48
TTPa	(13,5 - 16,7 segundos)	11,7 ± 1,8	15,3 ± 4,0	0,001

* FONTE: SMITH; DAY; MACKIN (2005); THRALL (2006).

** Teste - *t* de Student

Resultados estatisticamente significantes estão representados por valores de *P* em negrito

TS DE MUCOSA: Tempo de sangramento de mucosa; TCA: Tempo de coagulação ativada; TP:

Tempo de protrombina; TTPa: Tempo de tromboplastina parcial ativada.

5.7 DISCUSSÃO

Os achados da avaliação clínica do grupo com piometra e supostamente com SRIS fundamentam os critérios determinados por Hauptman *et al.* (1997) para a inclusão de cães com SRIS, onde segundo o autor, os mesmos (frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal) apresentam 97% de sensibilidade e 64% de especificidade. As alterações clínicas condizentes com os critérios de inclusão no grupo dos animais doentes apresentaram-se evidentemente maiores em comparação ao grupo controle (Hauptman *et al.*, 1997).

O tamanho, a idade e a presença em ambiente hospitalar são fatores promotores da diminuição da sensibilidade e especificidade da avaliação, possivelmente responsáveis pelos achados do grupo controle neste estudo, bem como favorecedores de erros diagnósticos quando somente da utilização dos parâmetros clínicos. Com o intuito de impedir falhas diagnósticas, utilizou-se os critérios estabelecidos por Hauptman *et al.* (1997) acrescido a confirmação clínica e de imagem para a ocorrência da infecção uterina, caracterizando o quadro séptico (Hauptman *et al.*, 1997; Hagman *et al.*, 2009).

Os resultados laboratoriais de hemograma do grupo doente encontrados corroboram a literatura para os achados de hipohemoglobinemia e anemia (45% dos animais tiveram resultados abaixo dos índices de normalidade na contagem do total de eritrócitos, 45% com diminuição no valor de hematócrito, 36% do VGM e 63% nos resultados do CHGM) em cadelas com piometra. O mesmo pôde ser comprovado por meio da presença de animais leucopênicos ou com leucocitoses neutrofílicas e desvios nucleares neutrofílicos regenerativos (nove animais ou 81%) ou degenerativos (dois animais ou 18%) (Faldyna *et al.*, 2001; Ettinger; Feldman, 2004; Smith, 2006; Thrall, 2006).

Similarmente ao utilizado por Hagman *et al.* (2009), todas as cadelas com piometra utilizadas no estudo apresentaram pelo menos três dos cinco critérios para o diagnóstico de SRIS (45% com três critérios, 9% com quatro critérios e 45% com os cinco critérios de inclusão) diminuindo a possibilidade de falso-positivos, uma vez considerada baixa a especificidade dos critérios utilizados (Hauptman *et al.*, 1997; Hagman *et al.*, 2009).

Os exames hematológicos (hemograma e bioquímico) foram realizados com intuito da avaliação pré-operatória do grupo controle (cadelas submetidas à cirurgia de ovariectomia eletiva) para confirmação de hígidez, possibilitando, além do diagnóstico de SRIS nas cadelas com piometra, posterior analogia com a literatura em relação às alterações dos exames bioquímicos.

A maioria dos resultados encontrados foi consistente com o reportado em literatura acerca de pacientes sépticos (entre os diversos mecanismos, a ocorrência de disfunções orgânicas e metabólicas por formação de complexo antígeno - anticorpo), principalmente por meio da ocorrência de azotemia (27%), hepatopatia (sete animais ou 63% com resultado elevado da FA e hipoalbuminemia), alterações glicêmicas (quatro animais) e intensa síntese de globulinas (Ettinger; Feldman, 2004; Smith, 2006; Thrall, 2006; Pretzer, 2008; Verstegen *et al.*, 2008).

Os exames que didaticamente configuram o coagulograma são o tempo de sangramento de mucosa, o TP e o TTPa, os quais avaliam, respectivamente, a hemostasia primária e secundária. Outros exames da rotina hospitalar e que também avaliam ambos os momentos hemostáticos (plaquetometria, tempo de coagulação ativada e fibrinogenemia) foram acrescentados ao coagulograma

possibilitando uma avaliação mais precisa de possíveis distúrbios hemorrágicos nas cadelas com piometra e SRIS (Wiinberg *et al.*, 2009).

Nenhum animal do estudo apresentou aumento do tempo de sangramento de mucosa oral, inclusive aqueles (do grupo controle ou doente) que apresentaram alteração em algum outro exame da hemostasia primária e/ou secundária. Segundo Fresno *et al.* (2005) o exame de tempo de sangramento de mucosa oral representa uma rápida porém inespecífica avaliação dos distúrbios da hemostasia primária, colocando sua eficácia em questão em virtude de uma sensibilidade controversa.

Para Sato *et al.* (2000) a mensuração do tempo de sangramento de mucosa possui vantagens distintas sobre outros métodos de avaliação da hemostasia primária, porém não ocorrendo publicações do método de repetibilidade para este teste, sendo seu aspecto mais importante. Segundo o mesmo autor, a análise inter e intra-observador de repetibilidade demonstraram diferença de pelo menos 80 segundos no resultado final do teste. Diferentes produtos comerciais para a realização da incisão na mucosa oral, bem como possíveis diferenças raciais poderiam favorecer tempos de coagulação distintos.

A presença de sete animais (63%) trombocitopênicos no grupo de cadelas com piometra e SRIS salienta a possibilidade da ocorrência de consumo plaquetário. Segundo Iba *et al.* (2007) e Ogura *et al.* (2007) a trombocitopenia em seres humanos sépticos corresponde a um importante marcador para o risco de óbito em decorrência do favorecimento da coagulação intravascular disseminada e disfunção de múltiplos órgãos. Yilmaz *et al.* (2008) observaram redução de até 73% dos valores da contagem plaquetária em modelos caninos de endotoxemia, caracterizando potencial valor diagnóstico nestes modelos de pacientes.

Wagg *et al.* (2009) observaram importante relação entre valores baixos de plaquetas (maiores que $30 \times 10^3/\text{mL}$ e menores que $92 \times 10^3/\text{mL}$) com concomitante estado de hipocoagulabilidade determinada pela avaliação do teste de tromboelastografia em cães admitidos em unidades de terapia intensiva.

Fransson *et al.* (2007) em seu estudo, porém, demonstrou a inexistência de correlação entre a contagem plaquetária e a presença de SRIS, bem como, Fresno *et al.* (2005) e Smith *et al.* (2005), demonstraram que não há alterações (e supostas

correlações) dos testes dos tempos de coagulação em cães com plaquetometria igual ou superior a 30×10^3 plaquetas /mL de sangue.

Dois animais (18%) do grupo doente apresentaram hiperfibrinogenemia, proporcionando ausência de significância estatística ou médias discrepantes entre os grupos estudados. Segundo Wagg *et al.* (2009) o aumento sérico do fibrinogênio foi significativamente consistente com estados de hipercoagulação por meio do exame de tromboelastografia em cães. Aumentos séricos do fibrinogênio estão principalmente correlacionados com o favorecimento de processos trombóticos, porém é sabido que sua mensuração isolada apresenta baixa sensibilidade para a determinação de possíveis distúrbios hemostáticos.

As elevações dos testes de TCA (via intrínseca) dos animais de ambos os grupos foram confirmadas por repetição dos testes, porém sendo observada maior prevalência do aumento do tempo de coagulação no grupo controle. A heterogeneidade dos animais (raça, peso e idade) utilizados no estudo associado à presença de alteração isolada do teste de TCA no grupo controle (em todos os animais) pode ter contribuído para os resultados encontrados. Segundo O'Kelley *et al.* (2009), porém, possíveis casos de hemorragia e necessidade transfusional alogênica trans e pós-operatória de pacientes com diáteses hemorrágicas poderiam ser evitados por meio de exames pré-operatórios que avaliassem o sistema hemostático.

O animal do grupo controle com aumento do tempo de protrombina (via extrínseca), somente apresentou a hiperfibrinogenemia concomitantemente, onde os outros exames de coagulação (TCA e contagem plaquetária) não apresentaram alterações que permitiram suspeitar da possibilidade de diátese hemorrágica. As alterações encontradas no exame do TTPa (via intrínseca) no grupo doente salientam a possibilidade da presença de coagulopatia nestes pacientes. A elevação do TTPa e trombocitopenia (um animal), do TP, do TTPa e trombocitopenia (um animal), do TP, TTPa, trombocitopenia e aumento do TCA (um animal) no grupo doente fortemente indicam, segundo Wiinberg *et al.* (2009) a presença de coagulação intravascular disseminada (CID).

Donahue *et al.* (2005) reforça a presença de estados de hipocoagulação quando de elevações nos exames de TP e TTPa, ressaltando que momentos

tromboembólicos ou mesmo de hipocoagulabilidade em cães com CID são interpostos, dificultando o diagnóstico mais acurado do distúrbio hemostático, inclusive no exame de tromboelastografia. O mesmo autor ressalta que valores reduzidos dos testes de TP e TTPa não determinam a presença de estados de hipercoagulação, os quais favorecem doenças tromboembólicas.

Duas cadelas ou 18% (animal 5 e 11 nas tabelas) com piometra e SRIS (grupo doente) que apresentaram exames compatíveis com CID vieram a óbito nas primeiras 24 horas após a cirurgia de ovariectomia, corroborando os achados de Wiinberg *et al.* (2009) que descreve acentuada taxa de morbimortalidade de cães que apresentam alterações dos resultados dos exames de coagulação compatíveis com a CID (elevações nos testes de TP e TTPa e trombocitopenia por exemplo).

5.8 CONCLUSÃO

Os exames que compõem o coagulograma, acrescido aos demais testes da coagulação, devem ser empregados na rotina hospitalar para o diagnóstico de diáteses hemorrágicas, principalmente em cães sabidamente de grupos de risco. Os resultados observados neste trabalho corroboram a literatura quanto à importância de tornar este um exame de rotina na medicina veterinária, especialmente para aqueles animais sob graves doenças.

Ressalta-se, porém, que o exame de coagulograma contribui para a determinação de cães com déficits de coagulação (congenitos) ou que apresentem estados avançados de CID (hipocoagulabilidade). Possíveis disfunções hemostáticas favorecedoras de trombose (estado de hipercoagulabilidade), consequentemente, não foram evidenciadas.

5.9 REFERÊNCIAS

BRADY, C. A., OTTO, C. M. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. **Veterinary Clinics North of America**, v. 31, n. 6, p. 1147 – 1162, 2001.

BROOKS, M. B., CATALFAMO, J. L., BROWN, H. A., IVANOVA, P., LOVAGLIO, J. A hereditary bleeding disorder of dogs caused by a lack of platelet procoagulant activity. **BLOOD**, v. 99, n. 7, p. 2434 – 2441, 2002.

DONAHUE, S. M., OTTO, C. M. State-of-the-Art Review. Tromboelastography: a tool for measuring hypercoagulability, hypocoagulability, and fibrinolysis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 1, p. 9 – 16, 2005.

ETTINGER, S. J., FELDMAN, E. C. **TRATADO DE MEDICINA INTERNA VETERINÁRIA**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2156p. Cap. 162: O Complexo Hiperplasia Endometrial Cística / Piometra e Infertilidade em Cadelas, p. 1632 – 1649. Cap.179: Plaquetas e Doença de von Willebrand, p. 1915 – 1926. Cap. 180: Coagulopatias e Trombose, p. 1927 – 1940.

FALDYNA, M., LAZNICKA, A., TOMAN, M. Immunosuppression in bitches with pyometra. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, p. 5 – 10, 2001.

FOSSUM, T. W., HEDLUNG, C. S., HULSE, D. A., JOHNSON, A. L., SEIM, H. B., WILLARD M. D., CARROLL, G. L. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2ª ed. São Paulo: ROCA, 2005. 1390p. Cap. 28: Cirurgia dos Sistemas Reprodutivo e Genital, p. 638 – 644.

FRANSSON, B. A., LAGERSTEDT, A.-S., BERGSTROM, A., HAGMAN, R., PARK, J. S., CHEW, B. P., EVANS, M. A., RAGLE, C. A. Original Study: C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p. 373 – 381, 2007.

FRESNO, L., MOLL, J., PEÑALBA, B., ESPADA, Y., ANDALUZ, A., PRANDI, D., GOPEGUI, R. R., GARCÍA, F. Short Communication: Effects of preoperative administration of meloxicam on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and haematological indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. **The Veterinary Journal**, v. 170, p. 138 – 140, 2005.

HAGMAN, R., REEZIGT, B. J., LEDIN, H. B., KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 females dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 2, p. 1 – 9, 2009.

HAUPTMAN, J. G., WALSHAW, R., OLIVIER, N. B. Evaluation of the sensitivity and specificity and diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 26, n. 5, p. 393 – 397, 1997.

HESS, J. R., BROHI, K., DUTTON, R. P., HAUSER, C. J., HOLCOMB, J. B., KLUGER, Y., JONES, K. M., PARR, M. J., RIZOLI, S. B., YUKIOKA, T., HOYT, D. B., BOUILLON, B. The Coagulopathy of Trauma: A Review of Mechanisms. **The Journal of TRAUMA Injury, Infection, and Critical Care**, v. 65, n. 4, p. 748 – 754, 2008.

HOPPER, K., BATEMAN, S. State of the Art Review: An updated view of hemostasis: mechanisms of hemostatic dysfunction associated with sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 2, p. 83 – 91, 2005.

IBA, T., GANDO, S., MURATA, A., KUSHIMOTO, S., SAITOH, D., EGUCHI, Y., OHTOMO, Y., OKAMOTO, K., KOSEKI, K., MAYUMI, T., IKEDA, T., ISHHIKURA, H., UEYAMA, M., OGURA, Y., ENDO, S., SHIMAZAKI, S. Predicting the Severity of Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) – Associated Coagulopathy With Hemostatic Molecular Markers and Endothelial Vascular Injury Markers. **The Journal of TRAUMA Injury, Infection, and Critical Care**, v. 63, n. 5, p. 1093 – 1098, 2007.

KNOBEL, E. **Condutas no Paciente Grave**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2006. 2841p. SEÇÃO 2 – CHOQUE E DISTÚRBIOS HEMODINÂMICOS, Cap. 3: Fisiopatologia do choque e da disfunção de múltiplos órgãos, p. 41 – 60. Cap. 4: Seps e choque séptico, p. 61 – 78. SEÇÃO 3 – DISTÚRBIOS CARDIOVASCULARES, Cap. 17: Interdependência ventricular, p. 265 – 270.

OGURA, H., GANDO, S., IBA, T., EGUCHI, Y., OHTOMO, Y., OKAMOTO, K., KOSEKI, K., MAYUMI, T., MURATA, A., IKEDA, T., ISHIKURA, Y., UEYAMA, M., KUSHIMOTO, S., SAITOH, D., ENDO, S., SHIMAZAKI, S. SIRS – Associated Coagulopathy and Organ Dysfunction in Critically ill Patients With Thrombocytopenia. **SHOCK**, v. 28, n. 4, p. 411 – 417, 2007.

OTTO, C. Clinical trials in spontaneous diseases in dogs: a new paradigm for investigations of sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 17, n. 4, p. 359 – 367, 2007.

O'KELLEY, B. M., WHELAN, M. F., BROOKS, M. B. Factor VIII inhibitors complicating treatment of postoperative bleeding in a dog with hemophilia A. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 4, p. 381 – 385, 2009.

PRETZER, S. D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. **Theriogenology**, v. 70, p. 359 – 363, 2008.

RAU, S., KOHN, B., RICHTER, C., FENSKE, N., KÜCHENHOFF, H., HARTMANN, K., HÄRTLE, S., KASPERS, B., HIRSCHBERGER, J. Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response

syndrome and sepsis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p. 253 – 260, 2007.

SATO, I., ANDERSON, G. A., PARRY, B. W. An Interobserver and intraobserver study of buccal mucosal bleeding time in Greyhounds. **Research in Veterinary Science**, v. 68, p. 41 – 45, 2000.

SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ª ed. São Paulo: Manole, 2007. 2714p. SEÇÃO 11. CAPÍTULO 98. p. 1487 – 1502.

SMITH, F. O. Canine pyometra. **Theriogenology**, v. 66, p. 610 – 612, 2006.

SMITH, J. W., DAY, T. K., MACKIN, A. CE: Diagnosing Bleeding Disorders. **COMPENDIUM**, p. 828 – 843, 2005.

SMITH, S. A. The cell-based model of coagulation. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 3 – 10, 2009.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª ed. São Paulo: ROCA, 2006. 582p. SEÇÃO UM, p. 1 – 51. SEÇÃO DOIS: Cap. 14, p. 170 – 187. SEÇÃO QUATRO: Cap. 26, p. 376 – 390.

TRASCH, K., WEHREND, A., BOSTEDT, H. Follow-up Examinations of Bitches after Conservative Treatment of Pyometra with the Antigestagen Aglepristone. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, p. 375 – 379, 2003.

VERSTEGEN, J., DHALIWAL, G., ONCLIN, K. V. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**, v. 70, p. 364 – 374, 2008.

WAGG, C. R., BOYSEN, S. R., BÉDARD, C. Thrombelastography in dogs admitted to an intensive care unit. **Veterinary Clinical Pathology**, p. 1 – 9, 2009.

WILLIAMS, J. L. Cross Talk Between the Inflammation and Coagulation Systems. **Clinical Laboratory Science**, v. 20, n. 4, p. 224 – 229, 2007.

WIINBERG, B., JENSEN, A. L., JOHANSSON, P. I., HANSEN, M. K., ROZANSKI, E., TRANHOLM, M., KRISTENSEN, A. T. Development of a model based scoring system for diagnosis of canine disseminated intravascular coagulation with

independent assessment of sensitivity and specificity. **The Veterinary Journal**, article in press – available online, 2009.

YILMAZ, Z., ERALP, O., ILCOL, Y. O. Evaluation of platelet count and its association with platelecrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. **Veterinary Clinical Pathology**, n. 37, v. 2, p. 159 – 163, 2008.

6.0 ANEXO

TABELA 6 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS CRITÉRIOS CLÍNICOS DE INCLUSÃO NA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS GRUPOS DE CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE			GRUPO DOENTE		
	FC (bpm)	FR (rpm)	T(°C)	FC (bpm)	FR (rpm)	T(°C)
ANIMAL 1	140	42	38,9	192	44	39,2
ANIMAL 2	116	38	38,6	126	72	38,1
ANIMAL 3	90	20	38,8	100	48	38,8
ANIMAL 4	112	20	38,3	154	40	38,0
ANIMAL 5	132	54	38,9	144	24	37,2
ANIMAL 6	108	47	38,9	132	54	39,7
ANIMAL 7	120	24	38,9	100	24	39,5
ANIMAL 8	92	26	38,9	104	30	39,7
ANIMAL 9	124	36	39,2	104	60	38,4
ANIMAL 10	96	26	38,6	160	44	36,5
ANIMAL 11	108	52	38,6	160	44	36,5

FONTE: O autor.

FC: Frequência cardíaca; FR: Frequência respiratória; T°C: Temperatura corporal periférica em graus Celsius.

TABELA 7 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE HEMOGRAMA (ERITROGRAMA) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE					GRUPO DOENTE				
	Erit	Ht	Hg	VGM	CHGM	Erit	Ht	Hg	VGM	CHGM
ANIMAL 1	7,47	52	18,1	69,6	34,80	7,00	42	12,8	60,0	30,50
ANIMAL 2	6,68	47	16,6	70,30	35,30	6,78	37	12,1	54,60	32,70
ANIMAL 3	6,23	45	16,3	72,23	36,22	5,12	30	9,9	58,60	33,00
ANIMAL 4	7,48	45	14,2	60,20	31,55	4,61	29	8,9	62,90	30,70
ANIMAL 5	9,34	54	16,8	57,82	31,11	5,69	32	9,5	56,20	29,70
ANIMAL 6	7,42	48	14,8	64,69	30,83	4,90	35	12,0	71,42	34,28
ANIMAL 7	7,84	49	15,5	62,5	31,63	8,66	48	14,1	55,42	29,37
ANIMAL 8	6,10	47	16	77	35	7,65	47	15,7	61,40	33,40
ANIMAL 9	7,50	55	19	73	34	7,25	48	13	66,20	27,08
ANIMAL 10	7,04	53	19	75,3	35,80	5,47	40	10,9	73,12	27,25
ANIMAL 11	7,42	45	12,5	60,6	27,8	3,89	29	7,6	76,31	26,20

FONTE: O autor.

Erit: Contagem total de eritrócitos em milhões/ μ L; Ht: Hematócrito em porcentagem; [Hg]: Hemoglobinometria em g/dL; VGM: Volume globular médio em fentolitros; CHGM: Concentração de hemoglobina globular média em porcentagem.

TABELA 8 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE HEMOGRAMA (LEUCOGRAMA) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE ^{***}							GRUPO DOENTE ^{***}						
	LG	SEG	BAS	MET	LIN	EOS	MON	LG	SEG	BAS	MET	LIN	EOS	MON
AN 1	11700	6201	0	0	4446	351	702	19000	4324	10152	0	1128	188	3008
AN 2	8200	4510	0	0	2870	410	410	62800	27004	22608	0	3140	1256	8792
AN 3	12100	6292	0	0	3025	169 4	1089	44700	29502	7152	0	2682	1341	4023
AN 4	10700	6741	321	0	1819	535	1284	113000	68930	28250	0	2260	0	13560

AN 5	7900	4977	0	0	1896	632	395	21600	14472	4968	0	864	216	1080
AN 6	11000	5720	0	0	3520	1650	110	20100	16281	402	0	1809	0	1608
AN 7	9700	5335	291	0	3395	485	194	22600	10170	4746	0	3616	904	3164
AN 8	12300	8733	0	0	1845	1107	615	32200	26404	644	0	4508	322	322
AN 9	9900	6435	0	0	1485	1683	297	20000	10200	5000	0	2800	200	1800
AN 10	12300	9717	0	0	1230	0	1353	1800	576	648	0	360	144	72
AN 11	9900	5148	297	0	3960	198	297	1600	0	352	128	960	0	160

FONTE: O autor.

AN: Animal

LG: Leucometria global; SEG: Contagem total de segmentados neutrófilos; BAS: Contagem total de segmentados basófilos; MET: Contagem total de segmentados metamielócitos; LIN: Contagem total de linfócitos; EOS: Contagem total de eosinófilos; MON: Contagem total de monócitos.

* Basófilos não foram observados em ambos os grupos.

** Contagens celulares totais por μL .

TABELA 9 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS (PRIMEIRA PARTE) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE					GRUPO DOENTE				
	Uréia*	Crea	ALT	GGT	FA	Uréia	Crea	ALT	GGT	FA
ANIMAL 1	28,0	1,2	47	3,4	57	11,83	1,09	17,28	9,03	416
ANIMAL 2	35,0	1,2	32	4,0	72	104,94	4,79	30,22	25,16	563
ANIMAL 3	14,0	0,9	31	8,8	83	3,13	0,86	20,01	7,87	192
ANIMAL 4	8,79	1,04	43,47	13,69	38	33,41	2,16	13,48	11,40	328
ANIMAL 5	10,76	1,16	153,78	8,84	17	67,64	2,66	57,72	5,36	278
ANIMAL 6	12,05	1,21	39,69	8,72	27	31,0	1,0	25,0	3,70	88
ANIMAL 7	15,64	1,26	54,84	21,24	29	17,55	1,17	29,24	5,45	242
ANIMAL 8	61,0	1,3	75	6,9	91	51,0	0,67	38,10	5,40	38
ANIMAL 9	40,0	1,5	62	14,5	145	29,25	1,51	11,35	2,69	238
ANIMAL 10	41,9	0,9	29	3,0	41	80,96	1,50	50,58	3,49	276
ANIMAL 11	32,06	1,12	45,36	6,22	157	27,62	1,05	12,50	2,63	122

FONTE: O autor.

Crea: Creatinina em mg/dL ; ALT: Alanina aminotransferase em UI/L ; GGT: Gama glutamiltransferase em UI/L ; FA: Fosfatase alcalina em UI/L .

* Em mg/dL .

TABELA 10 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES BIOQUÍMICOS (SEGUNDA PARTE) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE				GRUPO DOENTE			
	Glicose*	PT	ALB	GLOB	Glicose	PT	ALB	GLOB
ANIMAL 1	84	5,0	3,5	1,5	46	7,8	1,77	6,03
ANIMAL 2	92	5,2	3,6	1,6	111	8,8	1,66	7,14
ANIMAL 3	72	5,8	3,8	2	84	7,9	1,17	6,73
ANIMAL 4	90	7,1	3,53	3,57	105	7,3	2,59	4,71
ANIMAL 5	86	7,5	3,69	3,81	86	6,8	2,15	4,65
ANIMAL 6	77	6,5	3,4	3,1	115	6,9	2,8	4,1
ANIMAL 7	81	6,4	3,42	2,98	98	6,3	2,34	3,96
ANIMAL 8	92	6,7	3,5	3,2	83,3	7,4	3,2	4,2
ANIMAL 9	146	5,5	3,7	1,8	96	8,8	2,24	6,56
ANIMAL 10	104	6,1	3,4	2,7	80	6,6	2,73	3,87
ANIMAL 11	104	5,3	2,94	2,36	55	6,4	1,23	5,17

FONTE: O autor.

PT: Proteína total em g/dL; ALB: Albumina em g/dL; GLOB: Globulina em g/dL.

* Em mg/dL.

TABELA 11 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE FIBRINOGENEMIA, TEMPO DE COAGULAÇÃO ATIVADA E PLAQUETOMETRIA EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE			GRUPO DOENTE		
	Fibr	TCA	Plaq	Fibr	TCA	Plaq
ANIMAL 1	200	8,26	227,5	400	9,2	157
ANIMAL 2	200	11,26	207,5	400	7,3	192,5
ANIMAL 3	200	20,6	160	800	11,3	170
ANIMAL 4	400	10,03	253	400	6,3	311
ANIMAL 5	200	8,03	217	200	21	192

ANIMAL 6	300	9	215	100	7,3	336
ANIMAL 7	200	6,3	272	200	9,3	210
ANIMAL 8	400	16,1	420	400	8	115
ANIMAL 9	200	13,4	250	600	7	420
ANIMAL 10	800	15	357,5	200	10	115
ANIMAL 11	600	11,45	214	400	6,3	131

FONTE: O autor.

Fibr: Fibrinogenemia em mg/dL; TCA: Tempo de coagulação ativada em minutos; Plaq: Plaquetometria - multiplicada por $10^3/\mu\text{L}$.

TABELA 12 – RESULTADOS INDIVIDUAIS DOS EXAMES DE TEMPO DE SANGRAMENTO DE MUCOSA, TEMPO DE PROTROMBINA E TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA (COAGULOGRAMA) EM CÃES SADIOS (CONTROLE) E COM PIOMETRA E SRIS (DOENTE)

	GRUPO CONTROLE			GRUPO DOENTE		
	TSM	TP	TTPa	TSM	TP	TTPa
ANIMAL 1	1,03	8,2	11,2	1,43	7,6	18,6
ANIMAL 2	1,5	6,9	11,7	1,36	8,2	14,4
ANIMAL 3	1,7	7,4	9,9	1,25	7,8	13,1
ANIMAL 4	1,13	7,9	10,9	1,0	7,2	16,7
ANIMAL 5	2	8,2	10,6	1,14	8,5	20,9
ANIMAL 6	2,05	8,2	10,2	2,0	6,1	21,3
ANIMAL 7	1,25	8,1	10,1	1,05	8,9	12,4
ANIMAL 8	2,1	7,8	10,1	2,37	8,2	9,2
ANIMAL 9	1,15	8,2	10,6	1,5	9,2	17,0
ANIMAL 10	1,42	7,6	10,7	2,2	6,0	10,0
ANIMAL 11	2	9,4	10,4	1,22	10,0	18,0

FONTE: O autor.

TSM: Tempo de sangramento de mucosa em minutos; TP: Tempo de protrombina em segundos; TTPa: Tempo de tromboplastina parcial ativada em segundos.